



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito da subnutrição na tolerância ao gosto
amargo em ovinos**

Luísa Marques Fialho

Orientação: Prof. Dr^a Elvira de Sales Baptista

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Dissertação

Évora, 2013



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito da subnutrição na tolerância ao gosto
amargo em ovinos**

Luísa Marques Fialho

Orientação: Prof. Dr^a Elvira de Sales Baptista

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Dissertação

Évora, 2013

Índice

Resumo	I
Abstract	II
Índice de tabelas	III
Índice de figuras	IV
Lista de abreviaturas	VI
Agradecimentos	VIII
1. Introdução	1
2. Revisão bibliográfica	3
2.1. Comportamento de ingestão	3
2.1.1. Ingestão voluntária	7
2.1.1.1. Palatabilidade	8
2.1.1.2. Preferências alimentares	10
2.1.2. Microestrutura da ingestão	13
3. Materiais e métodos	16
3.1. Materiais	16
3.1.1. Animais	16
3.1.2. Alimento	16
3.1.3. Local	18
3.2. Métodos	20
3.2.1. Metodologia do ensaio	20
3.2.2. Metodologia do processamento das imagens	26
3.2.3. Metodologia da análise estatística dos resultados	26
3.2.3.1. Análise de variância	26
3.2.3.2. Estudo de frequências por análise de Chi-quadrado.....	27
4. Resultados e discussão	28
4.1. Avaliação da condição corporal ao longo do ensaio	28
4.2. Seleção de tratamentos	30
4.3. Tempo de apreensão	34
4.4. Tempo de mastigação	39
4.5. Tempo total de ingestão	47
5. Conclusões	53
6. Bibliografia	55
7. Anexos	62

Resumo

Efeito da subnutrição na tolerância ao gosto amargo em ovinos

O estado nutricional dos ovinos em extensivo apresenta variações ao longo do ano, estando interligado com a qualidade e quantidade das pastagens naturais, que pode induzir a perdas de peso. É expectável que tais variações possam levar a alterações no comportamento de ingestão dos animais e suas preferências alimentares.

O objectivo deste trabalho foi perceber como as variações do estado nutricional podem alterar o comportamento de ingestão e a sensibilidade ao gosto. Para tal, foi estudada a microestrutura da ingestão em três grupos de ovinos, conjugando estados reprodutivos e nutricionais distintos: gestantes em manutenção (GM), gestantes em restrição (GR) e não gestantes em manutenção (NGM). Foi também testada a sua resposta comportamental à ingestão de alimento tratado apenas com etanol e dois níveis de intensidade de gosto amargo (soluções de 5 e 15% de quinino).

Verificou-se que o comportamento do grupo GR foi significativamente diferente do dos outros, para todos os parâmetros de microestrutura estudados neste trabalho. O comportamento de ingestão face aos três tratamentos, avaliado através do Tempo total de ingestão, foi significativamente diferente entre o grupo GR e os restantes (GM= $53,8 \pm 2,5s$; GR= $71,0 \pm 2,5s$; NGM= $48,1 \pm 2,5s$). Não se verificaram diferenças significativas entre os comportamentos de ingestão, face aos três tratamentos a que foi submetido o alimento (A= $56,1 \pm 28,1s$; B= $59,8 \pm 34,1s$; C= $56,9 \pm 30,3s$).

Palavras-chave

Comportamento de ingestão, estado reprodutivo, estado nutricional, microestrutura da ingestão, quinino, preferências alimentares, ovinos.

Abstract

Undernutrition effect in tolerance to a bitter taste in sheep

The nutritional status of sheep on extensive management, varies throughout the year related to the quality and quantity of natural pastures, which can produce weight loss. It is expected that these variations lead to changes in intake behavior of the animals and their feed preferences.

This study aimed to understand how variations in the nutritional status of the sheep may change their intake behaviour and taste sensitivity. In this way, we studied the microstructure of intake in three groups of sheep, linking different reproductive and nutritional status: pregnant under maintenance (GM), pregnant under restriction (GR) and non-pregnant under maintenance (NGM). It was also tested their behavioural response resulting from the ingestion of feed treated only with ethanol and the same kind of feed treated with two different intensity levels of bitter taste (5% and 15% ethanol quinine solution).

It was found that the intake behaviour, according the tree feed treatments and evaluated through Total Intake Duration, was significantly different between GR group and the others (GM= $53,8 \pm 2,5s$; GR= $71,0 \pm 2,5s$; NGM= $48,1 \pm 2,5s$). No significant differences were observed among behavioral responses for the three different feed treatments (A= $56,1 \pm 28,1s$; B= $59,8 \pm 34,1s$; C= $56,9 \pm 30,3s$), irrespective the group.

Key Words

Eating behaviour, reproductive status, nutritional status, microstructure of intake, quinine, feed preferences, sheep.

Índice de tabelas

Tabela 1: Composição química da dieta base expressa em percentagem de matéria seca.....	17
Tabela 2: Teor de proteína bruta nos diferentes tratamentos de alimento com sulfato de amónio.....	18
Tabela 3: Distintos tratamentos de alimento cedidos aos animais nas sessões de preferências alimentares.....	18
Tabela 4: Características dos distintos grupos de teste no início do ensaio.....	21
Tabela 5: Ordem de apresentação dos tratamentos aos animais nos testes de preferências alimentares durante os vários dias.....	23
Tabela 6: Delineamento experimental do ensaio de preferências alimentares.....	24
Tabela 7: Prioridade na preferência pelo tratamento, independentemente do grupo do animal.....	30
Tabela 8: Prioridade na preferência pelo tratamento, por grupos de animais.....	31
Tabela 9: Exemplo de comportamento de abordagem dos três tratamentos na realização do teste de preferências alimentares no terceiro dia de ensaio, por um animal do grupo NGM e outro do grupo GR.....	31
Tabela 10: Primeira preferência por tratamento, face à sua realização ao animal.....	33
Tabela 11: Sequência de abordagem dos tratamentos durante os testes de preferências alimentares.....	33
Tabela 12: Análise de variância para o tempo de apreensão.....	34
Tabela 13: Análise de variância para o tempo de mastigação.....	39
Tabela 14: Análise de variância para o tempo total de ingestão.....	47

Índice de figuras

Figura 1: Representação de um modelo de selecção alimentar e comportamento de ingestão por animais.....	4
Figura 2: Relação entre parâmetros da pastagem e o consumo de forragem.....	5
Figura 3: Planta da sala de ensaio em dias de testes de preferências alimentares.....	20
Figura 4: Cronograma do ensaio.....	21
Figura 5: Área de palpação para avaliação da condição corporal em ovinos.....	25
Figura 6: Condição corporal média por grupos de animais na primeira semana de testes de preferências alimentares.....	28
Figura 7: Condição corporal média por grupos de animais na segunda semana de testes de preferências alimentares.....	28
Figura 8: Condição corporal média por grupos de animais na terceira semana de testes de preferências alimentares.....	29
Figura 9: Tempo de apreensão dos distintos grupos de animais no tratamento A, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	35
Figura 10: Tempo de apreensão dos distintos grupos de animais no tratamento B, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	35
Figura 11: Tempo de apreensão dos distintos grupos de animais no tratamento C, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	36
Figura 12: Tempo médio de apreensão por grupos para o tratamento A.....	37
Figura 13: Tempo médio de apreensão por grupos para o tratamento B.....	37
Figura 14: Tempo médio de apreensão por grupos para o tratamento C.....	38
Figura 15: Tempo de apreensão para os distintos tratamentos em estudo.....	38
Figura 16: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento A, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	40
Figura 17: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento B, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	41
Figura 18: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento C, durante as três semanas de ensaio de preferências.....	41
Figura 19: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento A.....	42
Figura 20: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento B.....	43
Figura 21: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento C.....	43
Figura 22: Tempo de mastigação para os distintos tratamentos em estudo.....	46
Figura 23: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento A durante as três semanas de ensaio de preferências.....	48

Figura 24: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento B durante as três semanas de ensaio de preferências.....	48
Figura 25: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento C durante as três semanas de ensaio de preferências.....	49
Figura 26: Tempo médio de ingestão por grupos para o tratamento A.....	50
Figura 27: Tempo médio de ingestão por grupos para o tratamento B.....	50
Figura 28: Tempo médio de ingestão por grupos para o tratamento C.....	51
Figura 29: Tempo total de ingestão para os distintos tratamentos em estudo.....	52

Lista de abreviaturas

CC	Condição corporal
DP	Desvio-padrão
GM	Gestantes em manutenção
GR	Gestantes em restrição
ICAAM	Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas
MS	Matéria seca
NGM	Não gestantes em manutenção
PAL	Pausa na alimentação
PB	Proteína bruta
PM	Peso metabólico
PPS	Perda de peso sazonal
PV	Peso vivo

“Sonhar é de graça, mas realizá-lo custa muito”

(Roberto Shinyashiki)

Agradecimentos

Em primeiro lugar, aos meus pais, um obrigada do fundo do coração por me terem dado a oportunidade de estudar. E, acima de tudo, por tal como os avós, as manas e a princesa me terem dado força, nos momentos de maiores dificuldades ao longo deste percurso.

À professora Elvira, minha orientadora, por me ter dado a oportunidade de pertencer ao ensaio e investigar numa área que tanto gosto.

À Rita Marques, pela presença constante nesta fase da minha vida. Obrigada pela amizade e pela alegria que me transmitias todos os dias, mesmo quando parecia que nada estava a correr bem. Sem dúvida um caso de sucesso entre duas pessoas com maneiras de ser tão distintas.

Ao professor José António Lopes de Castro, pela amizade e pela ajuda “técnica” durante o ensaio. Obrigada professor, por me ter ensinado de uma forma tão “sua” a lidar com os animais. Saudades dos momentos “kit bolachas”.

Ao professor José Manuel Martins, director do Mestrado de Engenharia Zootécnica, pelo esclarecimento de todas as dúvidas que foram surgindo ao longo destes dois anos.

À Herdade do Freixo do Meio, localizada nos Foros de Vale Figueira, pela cedência dos animais.

Ao professor Paulo Fonseca, pela disponibilidade no transporte dos animais.

Ao professor Rui Charneca, pela dupla disponibilidade da realização das ecografias aos animais.

Ao médico veterinário, Dr. Fragoso, por estar sempre disponível quando algo corria menos bem com os animais do ensaio.

À Engenheira Graça Machado e à D^a. Margarida Romão, pela ajuda no laboratório de Nutrição e Metabolismo, ICAAM, onde foram realizadas todas as experiências e soluções relacionadas com os testes de preferências alimentares.

Ao Sr. Eliseu, pela gentileza de nos ter “substituído”, no tratamento dos animais, na fase pós ensaio, durante as férias de Verão.

À D^a. Rosária Saiote, auxiliar da biblioteca da Mitra, pela atenção que me deu, nas horas sem fim passadas a trabalhar na biblioteca.

Aos meus amigos, Sérgio Manteigas, Cristina Gonçalves e Joana Delgado que fazem parte da minha vida desde o início do meu percurso universitário... porque apesar de distantes nesta fase, estiveram sempre no meu coração.

À mais recente aquisição, mas não menos importante, Marisa Rodrigues, pelas noitadas bem passadas, apesar de a trabalhar. Obrigada pela força que sempre me deste, abelhinha.

Porque sem o vosso apoio nada disto teria sido possível...

1. Introdução

O sistema de produção de ovinos de carne é tradicionalmente feito no Alentejo recorrendo ao sistema extensivo, permanecendo os animais todo o ano a campo e utilizando os recursos alimentares disponíveis. O clima é, sem dúvida, uma das maiores condicionantes da produção ovina nesta região, visto que limita a produção das pastagens naturais, que constituem a base da alimentação dos animais neste sistema de produção. Dado o clima mediterrânico ser caracterizado por apresentar duas estações distintas, a estação seca e a estação chuvosa (Lérias *et al.* 2013) e uma vez que a quantidade e a qualidade da pastagem são altamente dependentes da precipitação e da temperatura (Stewart *et al.* 1961). O valor nutricional das pastagens tende a diminuir, devido ao aumento da percentagem de fibra e à redução do teor de proteína. A escassez de pastagem durante o Verão e Outono leva a que os animais atravessem um período de stress /carência nutricional no qual sofrerão significativas perdas de peso (PPS). É durante este período que os animais alteram e adaptam a sua sensibilidade gustativa.

Durante a época de seca, os animais podem perder até 40% do seu peso vivo (PV). Essas perdas podem causar uma redução da fertilidade dos animais e ainda afectar o peso das crias ao nascimento, culminando muitas vezes em taxas de mortalidade elevadas e num aumento da sua vulnerabilidade a doenças e parasitas, o que conduzirá a um aumento dos custos económicos (Lérias *et al.* 2013). Apesar de com algumas limitações, existem formas de se proceder ao controlo destas perdas de peso, de forma a tornar a produção mais eficaz. A suplementação é uma destas formas, embora se possa tornar dispendiosa e difícil de implementar em sistemas de produção extensivos. Outro modo de minimizar esta situação recorre à utilização de raças autóctones ou cruzadas (Lérias *et al.* 2013), ou ainda à introdução de raças tolerantes ao stress nutricional, isto é, a utilização de raças de adaptação natural a esses ecossistemas, como por exemplo animais de cauda gorda (Scanlon *et al.* 2012). Pelo facto de as ovelhas dedicarem mais tempo à alimentação do que a qualquer outra actividade comportamental, esta é considerada o factor mais caro em análises de custos da produção ovina (Gill, 2004) e o mais limitante à obtenção de resultados positivos na produção. O controlo da intensidade de pastoreio, juntamente com a nutrição adequada dos animais, provocam um aumento na produtividade e na qualidade do produto final, o que indica que a alimentação é o factor mais importante e no qual se deve investir para que a produtividade dos animais seja maximizada (Barbosa *et al.* 2007).

Tradicionalmente os ovinos foram sempre um dos suportes económicos no Alentejo visto que apresentam um tempo de gestação e de amamentação reduzido comparativamente com outras espécies de interesse zootécnico, proporcionando um aumento no ritmo de produção. Contudo, a produção de bovinos tem vindo a contrariar essa tendência, uma vez que estes apresentam custos de manejo mais reduzidos. Compreender os mecanismos de adaptação do comportamento de ingestão dos ovinos, que em última análise é responsável pelo aporte de nutrientes, poderá permitir uma melhor gestão do pastoreio, contribuindo para que a produção ovina em Montado se mantenha.

Assim sendo, este trabalho teve como objectivo perceber de que forma as variações do estado nutricional dos ovinos podem alterar tanto o comportamento de ingestão como a sensibilidade ao gosto. Com esta finalidade, foram utilizados três grupos de animais em diferentes estados nutricionais e reprodutivos, os quais foram sujeitos a testes de preferências alimentares, recorrendo a três tratamentos de um alimento base (granulado de luzerna desidratada): não tratado e com duas soluções com concentrações distintas de quinino (5 e 15%), de forma a conseguir concentrações crescentes de gosto amargo, normalmente uma sensação gustativa aversiva.

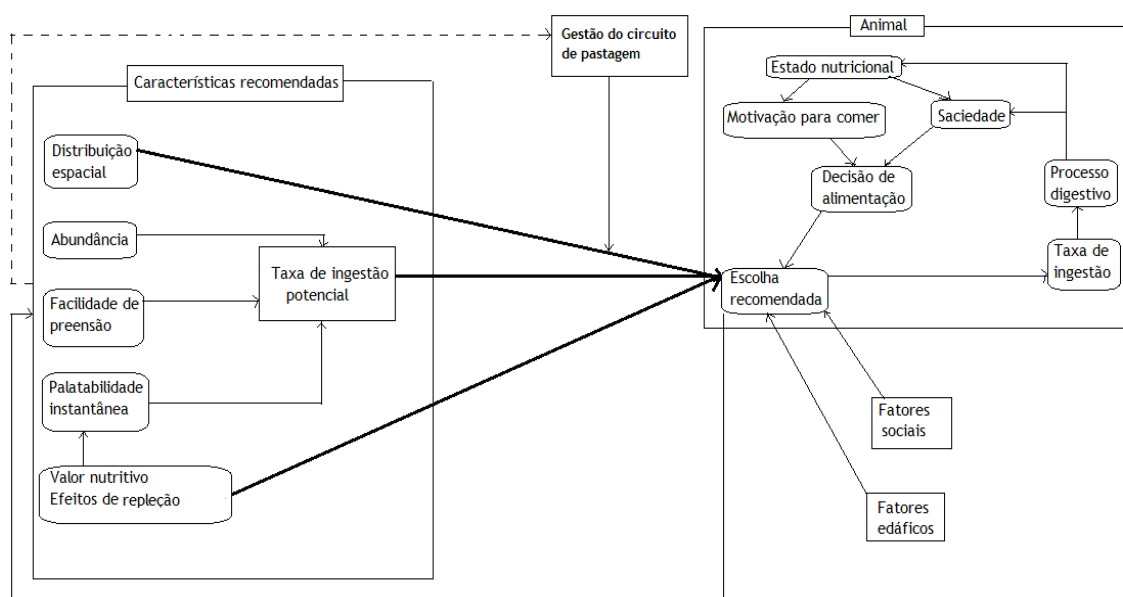
2. Revisão bibliográfica

2.1. Comportamento de ingestão

O comportamento de ingestão de alimentos pelos ruminantes pode ser caracterizado por uma sucessão de períodos definidos e discretos de actividades, comumente classificadas como ingestão, ruminação e descanso ou ócio (Penning *et al.* 1991).

O estudo do comportamento de ingestão conta já como uma longa história, tendo o seu início no ano de 1918, por Wallace Graing, cientista que estudava o comportamento animal (Keen-Rhinehart *et al.* 2010). Contudo, foi a partir dos anos 50 do século XX que o comportamento de ingestão de ruminantes, em sistema intensivo ou extensivo de produção, começou a ser amplamente estudado (Baumont *et al.* 2000). A avaliação do comportamento de ingestão tem, ao longo dos tempos, sofrido melhorias significativas. Entre os métodos utilizados para tal, existem: os indirectos, que incluem a estimativa de ingestão através do cálculo da digestibilidade, e os directos, onde se encontra a observação directa deste parâmetro (Clapham *et al.* 2011), no qual se baseia o ensaio experimental deste trabalho.

São vários os factores que podem influenciar o comportamento de ingestão, os quais podem afectar directa e indirectamente a produtividade (Forbes, 1995). Segundo Baumont *et al.* (2000) esses factores estão relacionados com o animal, com o ambiente em que este vive e com o alimento ingerido (ver Figura 1).



(Adaptado por Silva, 2004 a partir de Baumont *et al.* 2000)

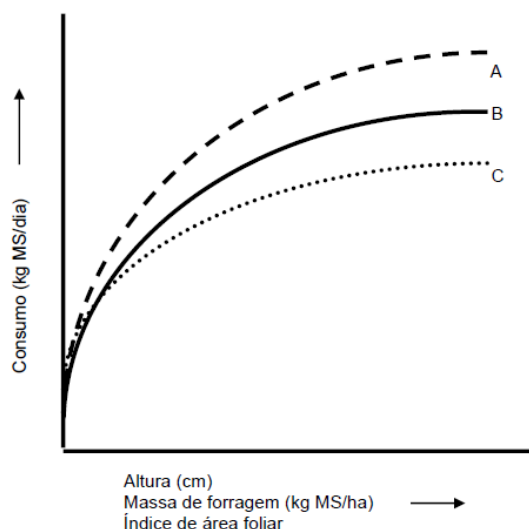
(A linha pontilhada indica a informação que um pastor / produtor pode utilizar para fazer a gestão de um circuito de pastagem)

Figura 1: Representação de um modelo de selecção alimentar e comportamento de ingestão por animais

Na pastagem, os ruminantes são confrontados com situações alimentares variadas, que vão desde as monoculturas até às pastagens permanentes altamente diversificadas, como no sistema extensivo em Montado. Assim, podem deparar-se com uma grande variabilidade de itens alimentares que diferem em termos de qualidade e de disponibilidade, dependendo das espécies vegetais presentes, dos seus estados fenológicos e do seu estado geral (altura, humidade, etc.) (Favreau-Peigné *et al.* 2012). Alguns desses factores estão interligados e são:

- Estrutura da pastagem

A estrutura da pastagem tem sido usualmente definida como a disposição espacial da biomassa aérea numa pastagem. De uma forma geral, é descrita por variáveis que expressam a quantidade de forragem existente de forma bidimensional (e.g. kg MS/ha) (Carvalho *et al.* 2001). A resposta funcional clássica que relaciona o efeito da estrutura da pastagem com a ingestão de forragem por animais em pastoreio, é descrita por uma função curvilínea (ver Figura 2), onde há um aumento da ingestão à medida que aumenta a quantidade de matéria verde presente na pastagem, até um ponto de estabilização, representado pela saturação do animal em processar o alimento (Gordon e Illius, 1992).



Fonte: Carvalho *et al.* (2000)

Figura 2: Relação entre parâmetros da pastagem e o consumo de forragem

As curvas A, B e C indicam que é possível observarem-se diferentes níveis de consumos para uma mesma altura, massa de forragem ou índice de área foliar, por diferenças na estrutura ou qualidade intrínseca das plantas ou mesmo com animais de diferentes condições corporais e potenciais genéticos (Carvalho *et al.* 2000).

A estrutura da pastagem é o resultado da dinâmica de crescimento das suas partes, no espaço e no tempo. As características implicadas na formação desta estrutura são as variáveis designadas por morfológicas (Nabinger, 1999), tais como a duração de vida das folhas e a sua taxa de aparecimento. Por outro lado, as variáveis climáticas afectam fortemente as variáveis morfológicas. Desta forma, tem-se que a estrutura de uma pastagem é, em parte, reflexo do clima, como já referido. Por exemplo, a temperatura afecta a velocidade de aparecimento das folhas. Por fim, também os animais a afectam, através do pastoreio. O exemplo mais clássico deste facto é a densidade de afilhamento em pastagens submetidas a métodos de pastoreio diferentes. Em pastoreio contínuo o afilhamento é menor e a sua quantidade por unidade de área é maior, contrariamente ao que acontece na situação de pastoreio rotativo (Hodgson, 1990).

- Disponibilidade de pastagem

Em experiências efectuadas com azevém anual em diferentes estados fenológicos, verificou-se que, com o aumento da idade da planta ocorre uma diminuição na relação folha/caule e que, nestas condições, os animais utilizam estratégias adaptativas para

assegurarem uma elevada qualidade do alimento ingerido. Uma das estratégias é aumentar o tempo de pastoreio (Pedroso *et al.* 2004; Barbosa *et al.* 2007).

- Características nutritivas da pastagem

Segundo Crowder e Chheda (1982) o valor nutritivo de uma pastagem é caracterizado pela sua composição química, digestibilidade e natureza dos produtos digestíveis, enquanto a qualidade da pastagem envolve uma avaliação integrada do seu valor nutritivo e do nível de consumo de matéria seca pelo animal. A pastagem pode ser muito variável em valor nutritivo, sendo o estado fenológico um dos principais factores que o afectam. Quando a pastagem tem baixo valor nutritivo, isto deve-se ao reduzido teor de proteína bruta e minerais, ao seu elevado conteúdo de fibra e à sua reduzida digestibilidade, normalmente associado a um estado vegetativo reprodutivo.

De um modo geral, os animais tendem a manter estável o aporte de nutrientes, o que quer dizer que seleccionam os alimentos e partes do alimento que ingerem (Hughes, 1993). Para seleccionarem o alimento a consumir, os animais podem basear-se em dois tipos de informação para avaliar os alimentos em causa: (i) Informação pré-ingestiva, que se refere às características organolépticas do alimento, percebidas pelo animal, antes de o deglutir e (ii) Informação pós-ingestiva, que indica ao animal as consequências metabólicas provenientes da deglutição do alimento em causa (Favreau-Peigné *et al.* 2012). Muita desta informação ligada ao alimento é modelada pela aprendizagem. A aprendizagem acerca dos alimentos envolve alterações neurológicas, morfológicas e fisiológicas nos animais (Provenza e Ralph, 1990).

Dadas estas influências, o estudo do comportamento alimentar é complexo. Cardoso *et al.* (2006) mostraram que o estudo do comportamento de ingestão se torna uma ferramenta importante, na medida em que permite conhecer a resposta do animal. Assim, o conhecimento do comportamento de ingestão torna-se imprescindível na avaliação dos resultados do uso de dietas, possibilitando ajustar o manejo alimentar dos animais para obtenção de melhores resultados produtivos. Um dos parâmetros importantes é a quantidade ingerida, conhecida como ingestão voluntária.

2.1.1. Ingestão voluntária

De acordo com Forbes (1995), a ingestão voluntária é a quantidade de alimento ingerida por um animal ou grupo de animais, num determinado período de tempo, durante o qual tiveram acesso livre ao mesmo.

O controlo da ingestão envolve estímulos de fome e saciedade, que operam por intermédio de vários mecanismos neuro-hormonais (Pereira *et al.* 2003). A leptina, produzida no tecido adiposo, é uma das hormonas relacionadas com o controlo do apetite. Segundo Mertens (1994), o apetite ou impulso de alimentação é uma função das necessidades energéticas do animal determinado pelo potencial genético ou pela condição fisiológica, ou seja, o tamanho, condição corporal, raça, estado fisiológico e as características da dieta dos animais são factores que condicionam a ingestão voluntária de alimento e como resposta adaptativa dos animais, a ingestão voluntária aumenta em ambiente frio e diminui quando a temperatura do meio aumenta.

Gill (2004) refere que, quando expostos à alimentação *ad libitum*, os ovinos apresentam um padrão de alimentação predominantemente diurno. Jensen (2002) acrescenta que os animais preferem este período, evitando a noite, provavelmente como uma resposta adaptativa anti-predador. Em relação ao período do dia em que ocorre maior intensidade de pastoreio, e consequentemente maior competição por consumo de pastagem, observou-se que tal facto se deu nas horas próximas do amanhecer e do final do dia, provavelmente devido ao facto de as temperaturas serem mais amenas nesse período. Segundo Orr *et al.* (1997), o pastoreio preferencial pelos ovinos dá-se no período final da tarde, provavelmente por coincidir com a maior acumulação de nutrientes pelas plantas. Zanine *et al.* (2006) acrescentaram ainda que os animais permanecem em descanso nos horários mais quentes do dia, como estratégia para um melhor aproveitamento energético do alimento. Em determinadas circunstâncias, podem ser praticadas algumas refeições no período nocturno. Contudo, o que motiva geralmente o início das actividades de pastoreio é o nascer do sol. Num ensaio efectuado por Silva (2004), os ovinos, distribuíram de um modo geral a sua alimentação diária por três a cinco períodos de pastoreio. Esta pode ser considerada uma variável inversamente proporcional ao consumo, isto é, quanto maior a disponibilidade de pastagem, menor o tempo total de pastoreio e maior o número de refeições curtas realizadas de forma intercalada. Assim, quando se procura um indicador de qualidade da pastagem, o

número de períodos de pastoreio poderá ser um bom parâmetro. De acordo com o sugerido por Gill (2004), os ovinos quando se deparam com uma pastagem altamente nutritiva, diminuem o tempo dedicado à actividade de pastoreio e ingerem muito além das suas necessidades nutricionais, causando um aumento de peso nos animais. Contrariamente a esta ideia, Baumont *et al.* (2000) referem a existência de um tipo de *feedback* responsável por prevenir tais situações. Trata-se do *feedback* pós-ingestivo, que contribui para prevenir a ingestão de alimento em excesso.

Os ruminantes são capazes de ingerir maior quantidade de pastagem de elevada digestibilidade do que de baixa, já que estas ocupam maior volume e têm um período mais longo de permanência no rúmen (McCracken *et al.* 1993). Van Soest (1994) afirmou que o tempo despendido em ruminação é influenciado pela natureza da dieta e, provavelmente, proporcional à constituição da parede celular dos alimentos volumosos. Assim, quanto maior o teor em fibra na dieta, maior o tempo despendido na ruminação. Ainda segundo o mesmo autor, a resposta do animal a diferentes digestibilidades pode ocorrer através da compensação de uma maior quantidade de alimento de menor qualidade.

Muitas das teorias que explicam a ingestão voluntária de alimento têm em comum o facto de o consumo ou armazenamento de energia ser controlado pelo cérebro, com o objectivo de preservar o funcionamento do organismo. Contudo, este consumo não é unicamente controlado por factores internos, sendo também as propriedades intrínsecas do alimento um factor a ter em consideração, na medida em que afectam a susceptibilidade dos animais. Os animais são então capazes de caracterizar o alimento que ingerem, através das consequências (positivas ou negativas) após a ingestão, ou seja por aprendizagem operante ou de tentativa e erro. De acordo com essas consequências, o alimento em causa pode vir a ser evitado no futuro, pelo animal. Essas características organolépticas vão definir a palatabilidade dos alimentos que afectam a apetência e a selecção por parte dos animais.

2.1.1.1. Palatabilidade

Os alimentos, além de apresentarem substâncias nutritivas essenciais para o desenvolvimento do organismo dos animais, podem também conter uma variedade de substâncias anti-nutritivas. Estas últimas são fitoquímicos que defendem as plantas da predação e podem causar uma diminuição na palatabilidade dos alimentos que as contêm, ao

interferirem na absorção dos nutrientes. Desta forma podem acarretar danos à saúde, quando ingeridos em quantidades elevadas.

São várias as definições para o termo palatabilidade. Segundo Baumont (1996), pode ser definida como o conjunto das características presentes no alimento que desencadeiam uma reacção nos sentidos do animal. É um factor chave na selecção alimentar, dependente das propriedades físicas e químicas dos alimentos, como é o caso da textura, odor e sabor. Favreau-Peigné *et al.* (2012), referem-se ao valor intrínseco do alimento, como não tendo qualquer efeito imediato de consequências pós-ingestivas e de factores ambientais. Porém, com a influência das características individuais, tais como a herança genética do animal, estado interno e experiências anteriores, pode ser modificada por aprendizagem. Baumont (1996), acrescenta ainda que a palatabilidade de um alimento não é um parâmetro absoluto, uma vez que depende do “estado de fome” do animal.

A palatabilidade influencia a taxa de ingestão dos alimentos (Baumont *et al.* 2000) ou seja, quando os alimentos são pouco palatáveis, os animais podem diminuir a ingestão de curto prazo. Favreau-Peigné *et al.* (2012) defendem a mesma ideia ao referirem que as características sensoriais influenciam a ingestão diária de uma pastagem de baixa qualidade em comparação com uma pastagem de boa qualidade. Por sua vez, Van Soest (1994) refere que a palatabilidade determina também a escolha das melhores porções do alimento. Isso acontece principalmente quando o alimento é fornecido *ad libitum*. Um bom exemplo disto é a escolha de folhas em detrimento dos caules. Por tudo isto é difícil medir a palatibilidade.

Uma forma não invasiva, indirecta e simples de avaliar as características sensoriais dos alimentos é observar as respostas comportamentais dos animais a estas características, sem qualquer efeito imediato de consequências pós-ingestivas. Segundo Favreau-Peigné *et al.* (2012), isto pode ser obtido através de:

- (i) medição das preferências alimentares, através da ingestão de curto prazo, uma vez que pode ser assumido que as consequências pós-ingestivas do alimento não foram ainda sentidas pelos animais;
- (ii) utilização de um ingrediente capaz de modificar as propriedades sensoriais do alimento, sem a manifestação de qualquer consequência pós-ingestiva;

- (iii) disponibilização de diferentes itens alimentares, uma vez que implica que o animal tenha de identificar qual o alimento que prefere;
- (iv) verificação, com um processo de condicionamento, em que a ingestão do agregado modificador sensorial não causa qualquer consequência pós-ingestiva uma vez que a dose envolvida no estudo é muito reduzida.

Estando a palatabilidade dependente das características do alimento e da fome dos animais, não existe um método aconselhável para medir esse parâmetro. No entanto ela afecta as escolhas ingestivas dos animais, que são determinadas através das preferências alimentares.

2.1.1.2. Preferências alimentares

Tal como acontece com os humanos, também os ruminantes apresentam preferências no que concerne aos alimentos. Para Provenza (1995), preferência alimentar é entendida como a interacção entre gosto e *feedback* pós-ingestivo, determinada pela condição fisiológica do animal e pelas características químicas do alimento.

O gosto é um dos cinco sentidos que dá aos ruminantes e a outros animais uma consciência do seu meio ambiente, através das sensações produzidas por células especializadas localizadas na língua. Desempenha um papel biológico fundamental na selecção, ao ajudá-los a regular a ingestão de alimentos adequados e rejeitar os inadequados. Estudos sobre a organização e o funcionamento das estruturas anatómicas e neurológicas responsáveis pela percepção do gosto em ruminantes têm demonstrado que ovinos, bovinos e caprinos têm receptores para todos os cinco gostos básicos (amargo, doce, *umami*, azedo e salgado) (Goatcher e Church, 1970).

O gosto e o olfacto, sendo ambos sistemas sensoriais dependentes de estímulos químicos, são muitas vezes misturados, resultando numa estimulação global da área oro-faríngea, designando-se por sabor ou *flavour*, que, juntamente com o sentido da visão, permite aos animais distinguir alimentos e proporciona sensações hedónicas e aversivas associadas à ingestão (Favreau-Peigné *et al.* 2012).

Os herbívoros vivem num mundo que está em constante mutação. Enfrentam desafios relativamente às suas necessidades nutricionais, pois a composição química das plantas sofre continuamente mudanças ao longo do ano, tal como o estado fisiológico dos animais (Provenza e Ralph, 1990). Desta forma, percebe-se que qualquer indivíduo deve ser capaz de lidar com tais alterações, como forma de sobrevivência (Provenza, 1995). Contudo, segundo Favreau-Peigné *et al.* (2012), quando têm oportunidade de escolha, os ruminantes tendem a tomar decisões para seleccionar uma dieta adequada tanto em termos de qualidade como de quantidade.

A selecção de alimentos está relacionada com a escolha entre as alternativas, o que envolve o córtex. As escolhas vão sendo automatizadas com a repetição, tornando-se assim conscientes (Kihlstrom, 1987). Quando a selecção do alimento é avaliada, é possível visualizar que os animais possuem preferências. A preferência de um animal relativamente à alimentação depende das suas necessidades nutricionais. Os animais preferem alimentos que atendam às suas necessidades e rejeitam os alimentos que são deficientes em nutrientes, alimentos que contêm níveis elevados de toxinas ou ainda quando são ricos em nutrientes digestíveis muito rapidamente (Provenza, 1995). Assim a preferência depende da inter-relação entre o gosto dos alimentos e os efeitos pós-ingestão (Provenza *et al.* 1996). Quando os animais têm possibilidade de escolha entre alimentos, geralmente preferem o que não foi consumido recentemente. Por sua vez, quando diferentes gostos são pulverizados sobre o mesmo alimento (com o objectivo de garantir consequências pós-ingestivas similares) e comparados em testes de escolha a curto prazo com o mesmo alimento sem tratamento, na maior parte das vezes os animais expressam claras preferências, apesar da semelhança de valor nutritivo (Favreau-Peigné *et al.* 2012).

No extremo oposto ao das preferências alimentares, existem as aversões que são manifestadas por diminuição da ingestão de um determinado alimento (Provenza, 1995). A linha que separa a saciedade e a aversão é muito ténue. Tal como nas preferências, verifica-se que são diversos os tipos de factores associados à dieta que podem originar aversões. Estas são involuntárias e não são o resultado de decisões conscientes por um animal, tendo como consequência a não ingestão do alimento. Num estudo realizado por Ralphs *et al.* (1995), verificou-se que as ovelhas preferem ingerir palha aromatizada com doses baixas de propionato (entre 5 a 7,5 g/kg MS) e adquirem aversão pelo mesmo alimento aromatizado

com doses superiores a 10g/kg MS da referida substância. Os animais, em geral, apresentam uma menor aversão aos alimentos que lhes são familiares do que aos novos alimentos (Provenza *et al.* 1996).

Relativamente às aversões alimentares, existe uma particular pelo gosto amargo. Os compostos de gosto amargo são ubíquos na natureza e muito diversos estruturalmente a nível molecular, facto que tem valido a que, de entre todos, tenha vindo a ser o gosto mais longamente estudado (Garcia-Bailo *et al.* 2009). Segundo Garcia e Hankins (1975) e Rogosic *et al.* (2008), os compostos que são tóxicos para os herbívoros apresentam este gosto, enquanto os gostos doces e *umami* deverão estar relacionados com os conteúdos em energia (Swithers e Davidson, 2008) e proteína (Naim *et al.* 1991) respectivamente. Mereu (2008) e Garcia-Bailo *et al.* (2009) indicam que o gosto amargo evoluiu de forma a que os animais evitassem o consumo de plantas que apresentassem toxinas. Assim, os animais que conseguem ter a percepção da presença destes compostos, vão evitar consumi-los.

Segundo Goatcher e Church (1970), os caprinos e os ovinos são mais tolerantes ao gosto amargo que os bovinos. Esta tolerância é reflectida nas suas preferências alimentares, pois estas espécies evoluíram em altitudes mais elevadas do que os bovinos, onde foram obrigados a consumir vegetação que normalmente apresenta esse gosto, como por exemplo arbustivas. Garcia-Bailo *et al.* (2009) defendem que as diferenças individuais, na percepção dos gostos podem influenciar os hábitos alimentares, afectando desta forma o estado nutricional do animal. Estas diferenças entre preferências e aversões reflectem-se na forma como os animais ingerem os alimentos, nomeadamente na velocidade e número de dentadas.

Estudos recentes demonstraram que o gosto *umami* tem um valor positivo, expresso por uma preferência inicial elevada, enquanto o gosto amargo apresenta um valor negativo, mostrado pela relutância das ovelhas em aumentar a sua preferência por este gosto. Assim, os herbívoros parecem atribuir valores, *a priori*, aos gostos básicos naturais. Consequentemente sugere-se que os ruminantes podem utilizar os gostos primários como pistas de forma a antecipar consequências dos alimentos na digestão (Favreau *et al.* 2010; Favreau-Peigné *et al.* 2012).

Segundo Van Soest (1994) os ovinos podem alterar os seus hábitos alimentares sem razão aparente, o que justifica o tempo prolongado dos ensaios que estudam este tema. Estes

devem ser conduzidos ao longo de diversas semanas devido ao facto de os animais necessitarem de um período de adaptação a fim de que seja estabilizado o consumo; se diminua essa variação; sejam atingidos os diferentes estados metabólicos, com vista a realizarem os testes de preferências alimentares nas condições ideais.

2.1.2. Microestrutura da ingestão

A nível individual e a nível de espécie, os animais seleccionam, preendem e mastigam o alimento de forma diferente, ou seja, apresentam uma forma diferente de lidar com o alimento, conhecida como a microestrutura da ingestão (Davis, 1989).

A preensão é o acto de recolha de alimento pelo animal, para a cavidade oral. Neste processo, os ruminantes usam a língua, o lábio superior e os dentes incisivos, em graus diversos consoante a espécie. Estas características bucais permitem cortar o alimento mais perto do solo o que induz maior capacidade de selecção do alimento a ingerir e uma melhor adaptação a sistemas onde a alimentação é mais escassa (Dryden, 2008).

A mastigação é a actividade que se segue à preensão. Mastigar é, de certa forma, um reflexo que pode receber influência do córtex cerebral. É um trabalho árduo e, como tal, gasta muita energia (Pérez-Barberia e Gordon, 1998). Entende-se por mastigação o conjunto de fenómenos que visam a degradação mecânica dos alimentos, isto é, a trituração e moagem dos alimentos, reduzindo-os a partículas pequenas, resultando na formação de um bolo alimentar coeso e na deglutição do mesmo (Salles *et al.* 2011). O alimento, quando dividido em pequenas partículas, apresenta uma maior superfície de acção para os sucos digestivos, facilitando assim a digestão. Para a realização deste processo, os ovinos utilizam os dentes e o palato duro. A intensidade da mastigação e a sua importância variam entre espécies. Nos ruminantes, consegue-se distinguir entre a mastigação fugaz, após a ingestão dos alimentos, e a que ocorre após a regurgitação do conteúdo ruminal. No primeiro tipo, os movimentos mastigatórios não ocorrem com a mesma intensidade que durante a ruminação e, mesmo os movimentos laterais do maxilar, são pouco pronunciados. O tempo necessário para mastigar uma determinada quantidade de alimento, depende da intensidade dos movimentos mastigatórios e das características do alimento. Os alimentos ricos em água requerem menos movimentos, e portanto, menos tempo de mastigação do que os alimentos secos (Baumont *et al.* 2006).

O passo final do processo de ingestão é a deglutição. Nesta fase, os alimentos sofrem um processo oro-motor bastante complexo. Segundo Salles *et al.* (2011), durante o processo de degradação do alimento para formação do bolo alimentar, determinados aspectos como a textura do alimento e as características anatômicas e fisiológicas dos animais influenciam a deglutição. Barret *et al.* (2001) acrescentam que o estado fisiológico do animal tem influência na ingestão, tanto a curto como a longo prazo. Em geral, a condição fisiológica do animal é tida como o resultado de factores como o peso vivo do animal, estado reprodutivo, fase de lactação e produção de leite (Barret *et al.* 2001).

Todas estas acções seguem uma sequência que define uma microestrutura da ingestão. Hoje em dia, esta é possível de ser analisada através de programas informáticos. *The Observer* é um dos *softwares* disponíveis e vai ser explorado neste trabalho. Os dados recolhidos através da visualização das imagens recolhidas por vídeo-gravação são referentes aos tempos de início de cada parâmetro da microestrutura estudado. Por sua vez, durante a sessão de testes, a informação obtida é armazenada em computador, para análise posterior (Davis, 1989).

A microestrutura do comportamento alimentar reflecte as propriedades físicas dos alimentos. Spiegel (2000), através de um estudo em humanos, verificou que as respostas a estas propriedades dos indivíduos magros e obesos, são semelhantes.

Para Greenwood e Demment (1988), o aumento da fome nos animais, induzida pelo jejum imposto, é um caso extremo de uma alteração na condição fisiológica a curto prazo. Animais em jejum têm tendência a adaptar o seu comportamento de consumo quando em condições normais e mostram tendência para aumentar a sua taxa de “bocado” e “bocados em massa”, como resultado do jejum.

De acordo com Mattes (2013), a redução do tamanho das partículas aumenta a biodisponibilidade da energia do alimento que está a ser consumido, ou seja, quanto mais mastigado for o alimento, menos se perde e mais é retido no organismo do consumidor. Ao invés, quando se mastiga pouco, as partículas maiores são eliminadas pelo organismo. Percebe-se então que a ingestão diária de matéria seca (MS) resulta do produto entre o tempo que o animal despende a pastorear, a taxa de preensões e a massa ingerida em cada preensão

(g MS ingerida por preensão). A massa ingerida é o factor mais determinante na taxa de ingestão, tendo um importante papel na ingestão diária de alimento e sendo bastante influenciada pela estrutura da planta (Barret *et al.* 2001). É importante referir ainda que, qualquer alteração que ocorra, quer na qualidade quer na quantidade de pastagem, associada a um esgotamento da mesma, representa uma diminuição drástica tanto ao nível da quantidade ingerida em cada preensão como ao nível da taxa de ingestão (Barret *et al.* 2001). É importante que a quantidade ingerida em cada preensão seja constante ao longo do dia, resultando numa quantidade elevada de MS ingerida. Contudo, quando os animais pastoreiam em sistema rotativo, a estrutura das plantas muda constantemente, alterando por essa razão a quantidade ingerida por preensão, bem como a taxa de ingestão. McGilloway *et al.* (1999) comprovaram isso mesmo ao afirmar que, alterações na quantidade e qualidade da pastagem apresentam um impacto negativo sobre a massa de pastagem e a taxa de ingestão.

3. Materiais e métodos

3.1. Materiais

3.1.1. Animais

Utilizaram-se quinze ovinos (*Ovis aries*) fêmeas, da raça Merino. Estes provieram da Herdade do Freixo do Meio, localizada nos Foros de Vale Figueira (Montemor-o-Novo). Os animais encontravam-se em sistema extensivo de produção. Foram seleccionados na exploração, num rebanho de cerca de 200 animais, no dia 29 de Março, tendo por base dois critérios: a idade (estimativa feita através da dentição) e estado reprodutivo (analisado por exame ecográfico efectuado 1,5 a 2 meses após o final da época de reprodução). Independentemente da idade, foram considerados para integrarem o ensaio animais gestantes e não gestantes.

Constituíram-se três grupos experimentais em que se tomou em consideração o estado reprodutivo e o plano nutricional: gestantes em manutenção (GM), gestantes em restrição (GR) e não gestantes em manutenção (NGM). Os animais foram sujeitos a restrição alimentar de forma a induzir um estado de subnutrição. Outras características dos animais serão referidas quando for abordada a Constituição dos grupos.

Os procedimentos experimentais foram executados sob a responsabilidade de um cientista creditado pela FELASA (Federation for Laboratory Animal Science Associations), respeitando as normas de bem-estar animal (ver Anexo 1). Os animais foram acompanhados semanalmente por um médico veterinário. Após o término do ensaio, os animais foram recuperados através de alimentação *ad libitum* de qualidade, vitaminas e propilenoglicol, de forma a evitar a toxémia de gestação.

3.1.2. Alimento

O alimento fornecido aos animais durante o período de ensaio foi apenas granulado de luzerna desidratada, cuja composição química consta na tabela abaixo representada (ver Tabela 1).

Tabela 1: Composição química da dieta base, expressa em % de Matéria Seca (MS) (PB: Proteína bruta; ADF: celulose + lenhina; ADL: lenhina)

Parâmetros		Granulado de luzerna desidratada
MS	%	93,41
CINZAS	% MS	15,50
PB	% MS	8,45
NDF	% MS	65,83
ADF	% MS	41,63
ADL	% MS	5,11

Apesar de o alimento ter sido adquirido como luzerna desidratada, comprovou-se por análise laboratorial (ver Tabela 1) que o nível de proteína bruta (PB) está abaixo do requerido em tal alimento, sugerindo, porventura, a adição de outras substâncias no composto. Ainda assim, iremos continuar a designar o alimento como luzerna granulada desidratada.

Ao nível laboratorial efectuaram-se testes para certificação da retenção do quinino pelos grânulos de luzerna. Uma vez que não existe forma de quantificar essa retenção, utilizou-se sulfato de amónio, dissolvido em água, em duas concentrações distintas. Posteriormente comparou-se a composição dos respectivos alimentos tratados em termos de proteína bruta (PB), com o alimento não tratado. O procedimento para cada concentração distinta de sulfato de amónio, 3 e 6%, realizou-se em triplicado. Para tal, pesaram-se 110 g de grânulos de luzerna para cada tratamento, que, de imediato se pulverizaram com as respectivas concentrações. De seguida deixou-se equilibrar os alimentos tratados, com a humidade do ar, durante aproximadamente dois dias, ao fim dos quais se moeram as porções de alimento separadamente, utilizando um moinho de ciclone com crivo de 1mm. Todas as amostras pulverizadas foram armazenadas em separado e devidamente identificadas. A determinação do azoto total foi efectuada através do método de combustão num aparelho Leco (FP 528). Os resultados de azoto (N) obtidos foram posteriormente convertidos em teor de proteína bruta (PB) contido em cada uma das amostras. Os resultados estão contidos na tabela abaixo representada (ver Tabela 2).

Tabela 2: Teor de proteína bruta (PB) nos diferentes tratamentos de alimento, com sulfato de amónio

	Alimento base	Nível de sulfato de amónio	
	0%	3%	6%
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
PB (%)	11,1 \pm 0,3	11,7 \pm 0,1	11,9 \pm 0,3

Assim, verificou-se que, de facto, o alimento conseguiu reter a solução, pois, o teor de PB do alimento, apesar de não proporcionalmente, foi mais elevado a cada concentração de sulfato de amónio. Desta forma, admitimos que se podia transpor o método para o tratamento dos alimentos com a solução de quinino.

O granulado de luzerna foi sujeito a três tratamentos. Um deles foi pulverizado apenas com etanol. Os outros dois, com uma solução de etanol e quinino (Cat number Q1125-10G, Sigma Aldrich), a fim de conferir diferente intensidade de gosto amargo (ver Tabela 3).

Tabela 3: Distintos tratamentos de alimento cedidos aos animais nas sessões de preferências alimentares

Tratamentos	
Solução A	Luzerna + etanol
Solução B	Luzerna + etanol com 5% de quinino
Solução C	Luzerna + etanol com 15% de quinino

As soluções foram preparadas em laboratório utilizando o etanol (96% vol. Aga CE 200-578-6) como solvente, preterindo a água, na medida em que aquele evaporava rapidamente e não desagregava o granulado. Foram adicionados 5 mL de cada uma das soluções (A, B ou C) a cada uma das três porções de alimento destinadas a cada animal (50g de cada tratamento), manuseando de seguida cada porção, de forma a que a solução ficasse distribuída uniformemente por todo o alimento. As soluções foram adicionadas ao alimento apenas duas horas antes da realização dos testes, incorporando 5 e 15 mg/kg MV de quinino respectivamente para as soluções B e C.

3.1.3. Local

A componente experimental deste ensaio decorreu na Herdade da Mitra (Universidade de Évora), na sala de ambiente controlado.

O espaço onde decorreu a experiência tem uma área de 39,95 m² e uma altura de 2,70 m. As suas paredes apresentam um revestimento de material isolante térmico, de forma a minimizar as trocas de calor com o exterior. Possui ainda um sistema de ventilação mecânica (Copilot-system, Barcelona, Espanha), com dois extractores que asseguram a renovação do ar e mantêm a atmosfera interna com níveis de gases não prejudiciais à saúde e bem-estar dos animais. Os sensores utilizados foram: (i) temperatura e humidade relativa; (ii) NO₂; (iii) NH₃; (iv) CH₄; (v) ciclo de luz (12/12 horas).

A funcionar a 100%, os extractores possuem um caudal de 6 600m³/h. Durante o mês de Junho os extractores funcionaram a 50% (3300m³/h) e efectuaram ciclos de 4 minutos ligados /6 minutos desligados, para manter a temperatura média de conforto de 28 ± 2°C. No mês de Julho, como as temperaturas médias mensais foram superiores às do mês anterior, os extractores funcionaram também a 50%, mas em ciclos de 5 minutos ligados/5 minutos desligados e a temperatura média adoptada foi de 29 ± 2°C. Esta programação foi efectuada tendo em conta a zona de conforto térmico dos ovinos. No caso de existir uma falha no funcionamento dos extractores ou no caso de as temperaturas serem superiores às estipuladas, a ventilação passava a ser feita naturalmente pelo sistema de abertura automática das seis janelas (0,70 x 0,70 m). Para além da ventilação, a temperatura foi mantida a 28°C de dia e 18°C de noite, por um aparelho de ar condicionado (Daikin, Osaka- Japão).

A sala tem uma porta dupla (2,5 x 2,0 m) de acesso ao exterior, constituída por perfis e chapa de ferro (4 cm de espessura), caixilharia em alumínio e janelas de vidro duplo. Tem ainda outra porta, de acesso a uma sala interior, onde estava armazenado o alimento e o equipamento necessário ao ensaio (ver Figura 3). Uma outra sala interior equipada com uma janela de vidro duplo (1,80 x 2,00m) permite a observação directa de todo o interior da sala de ambiente controlado. Nesta sala encontra-se instalado um equipamento de video-gravação fixo que, através de uma câmara localizada num canto da sala, permitiu registar o comportamento dos animais 24 sob 24 horas. Este sistema foi utilizado apenas nas 2 primeiras semanas de ensaio, visto que a actividade física dos animais, durante o tempo em que as pessoas intervenientes no ensaio estavam ausentes, era quase nula. Este facto pode dever-se ao facto de os animais não terem as suas necessidades alimentares totalmente satisfeitas.

O chão desta sala é em piso antiderrapante, posteriormente revestido com tapetes de borracha, possuindo uma grelha (5,52 x 0,70 m) para escoamento de dejectos e águas de

lavagem da sala. Um bebedouro automático de nível constante permite aos animais o acesso livre a água potável.



Figura 3: Planta da sala de ensaio em dias de testes de preferências alimentares

A sala estava dividida por cancelas amovíveis que delimitavam uma zona central (parque de repouso para os animais), uma manga e duas filas de quatro células individuais (1m x 1m x 1,20m) que serviam para controlo da alimentação diária de cada animal. Duas gaiolas metabólicas que tinham por objectivo permitir aos operadores filmar os animais durante a realização dos testes de preferências alimentares, para a posterior visualização de imagens e análise da microestrutura da ingestão (ver Figura 3).

3.2 Métodos

3.2.1. Metodologia do ensaio

O ensaio decorreu entre 29 de Março e 11 de Julho de 2012 e foi dividido em quatro fases distintas (ver Figura 4).

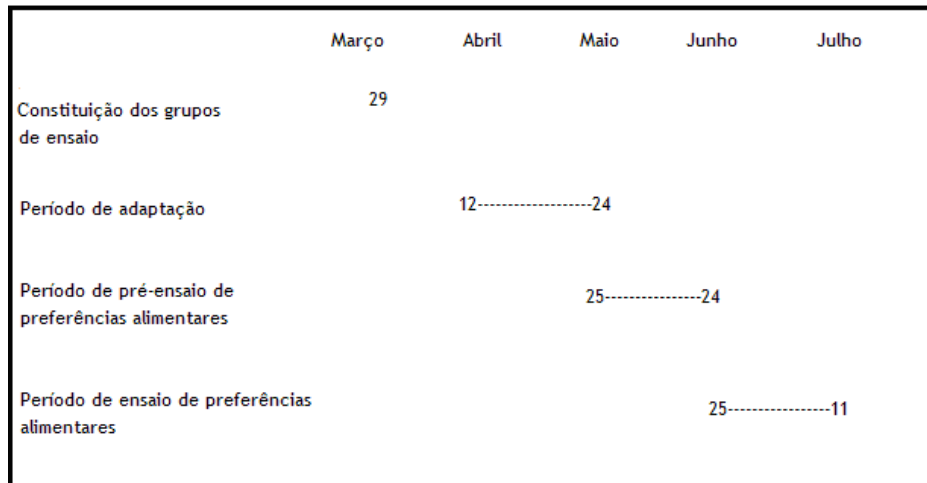


Figura 4: Cronograma do ensaio

Constituição dos grupos de ensaio

Como referido anteriormente, constituíram-se os grupos experimentais tendo em consideração dois factores, estados reprodutivos e planos nutricionais, tendo-se assim obtido três grupos experimentais: gestantes em manutenção (GM), gestantes em restrição (GR) e não gestantes em manutenção (NGM). Cada grupo de teste foi constituído por cinco animais. Na tabela 4, encontram-se os valores de referência para algumas características dos diferentes grupos de animais em teste.

Tabela 4: Características dos distintos grupos de teste no início do ensaio (PM: peso metabólico; GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Grupos	Idade média (anos) $\bar{X} \pm DP$	PV inicial (Kg) $\bar{X} \pm DP$	Condição corporal $\bar{X} \pm DP$	Gestação (meses) $\bar{X} \pm DP$	Alimento fornecido
GM	7,6 \pm 2,4	55,7 \pm 6,0	3,3 \pm 0,4	3 \pm 1	50 g/kg de PM
GR	6,2 \pm 1,8	51,7 \pm 5,8	3,3 \pm 0,5	3 \pm 1	20 g/kg de PM
NGM	12 \pm 2,0	48,3 \pm 3,4	3,4 \pm 0,4	---	50 g/kg de PM

A época de partos destes animais teve início a 19 de Julho e término a 17 de Agosto (ver Anexo 2).

Período de adaptação

Os animais chegaram à Herdade da Mitra no dia 12 de Abril de 2012, onde foram de imediato instalados em local exterior cercado, com acesso a água potável e comedouros, com o objectivo de se ambientarem ao espaço e às pessoas intervenientes no ensaio.

O período de adaptação no exterior destinou-se a montar e testar o funcionamento de todo o ensaio e equipamentos, entre os quais: sensores, bebedouro automático e ciclos de luz. Ainda neste período foi efectuada a tosquia dos animais, seguida da identificação (por meio de numeração na lã e coleira numerada).

Período de pré-ensaio

Os animais entraram na sala de ambiente controlado no dia 24 de Maio. Nesta data foram efectuadas ecografias com o objectivo de confirmar a gestação, uma vez que as detecções feitas no rebanho a campo tinham sido feitas mesmo em cima do limiar de detecção.

Este período englobou vários passos:

(i) preparar os animais para os diferentes planos nutricionais a que seriam sujeitos ao longo do ensaio, através de alterações induzidas no estado nutricional por alteração da composição nutricional da dieta (ver Tabela 4);

(ii) teste do procedimento de entrada dos animais nas gaiolas metabólicas, bem como a familiarização com o acto das filmagens, utilizadas para o registo de observações nos testes de preferências. Este treino foi feito através da rampa de acesso às gaiolas metabólicas, onde, no topo, se encontrava uma recompensa ao acto de aprendizagem (alimento não tratado);

(iii) verificação das concentrações de quinino a utilizar durante os testes, através de experiências com distintas concentrações de quinino nos alimentos administrados aos animais;

(iv) durante o período de pré-ensaio, os animais foram também sujeitos a cuidados veterinários: desparasitação e vacinação. Os animais que claudicavam foram ainda sujeitos à limpeza das unhas e corte correctivo das mesmas, seguindo-se posteriormente a aplicação de desinfectante apropriado.

Período de ensaio de preferências alimentares

O ensaio de preferências alimentares decorreu entre 25 de Junho e 11 de Julho. Os testes foram realizados semanalmente durante três dias consecutivos (segunda, terça e quarta-feira), estando os restantes dias ocupados com outras tarefas: recolha de amostras de sangue e saliva dos animais, para estudos complementares; preparação das soluções, bem como outras tarefas realizadas diariamente, como a limpeza do espaço ocupado pelos animais.

A hora de início dos testes foi inicialmente estipulada e rigorosamente cumprida (todos os testes iniciados à mesma hora), com vista a prevenir discrepâncias comportamentais, uma vez que os ovinos apresentam comportamentos distintos durante os diferentes períodos do dia. Todo o procedimento foi delineado de forma a tentar minimizar a probabilidade de erros. Os testes de preferências alimentares consistiram em fornecer porções de 50g dos alimentos com diferentes concentrações de quinino (A, B, C) aos animais, separadamente e durante um período definido de dez minutos. Os animais entravam facilmente nas gaiolas metabólicas através da rampa de acesso, uma vez que tinham estado sem acesso ao alimento sólido durante quase 24 horas. Os alimentos com diferentes tratamentos foram disponibilizados em recipientes separados e a posição de cada recipiente foi trocada diariamente (ver Tabela 5) de forma a não causar habituação por parte dos animais.

Tabela 5: Ordem de apresentação dos tratamentos aos animais nos testes de preferências alimentares durante os vários dias

Dia de teste de preferências alimentares	Ordem de apresentação do alimento
25 Junho	ABC
26 Junho	BCA
27 Junho	CAB
2 Julho	CAB
3 Julho	ABC
4 Julho	BCA
9 Julho	ABC
10 Julho	CAB
11 Julho	BCA

Durante o tempo de permanência dos animais nas gaiolas metabólicas, as observações foram registadas para posterior análise de dados em termos de selecção dos diferentes tratamentos de alimento, tempos de apreensão e tempos de mastigação. Os registos foram efectuados através de filmagens pela frente do animal e muito próximo deste, de forma a se conseguir captar eficazmente as imagens que, posteriormente, nos permitiram avaliar os parâmetros respeitantes à microestrutura da ingestão dos animais.

Os testes foram realizados em três dias consecutivos por semana, durante três semanas (ver Tabela 6)

Tabela 6: Delineamento experimental do ensaio de preferências alimentares (GM: gestantes em manutenção; GR: gestantes em restrição; NGM: não gestantes em manutenção)

Grupos	Nº de animais	Tratamentos	Nº de medições
GM	5	3	9
GR	5	3	9
NGM	5	3	9

A ordem de entrada dos animais nas caixas metabólicas foi inicialmente aleatória, por uma questão de facilitar o manejo. Contudo, posteriormente os animais apresentaram uma ordem semelhante todos os dias em que foram submetidos aos testes. Este facto pode indicar, entre outros factores, a timidez por parte de alguns animais, bem como a uma maior ansiedade relativamente à ingestão de alimento. Segundo Mertens (1994), o apetite ou impulso de alimentação é uma função das necessidades energéticas, determinadas pelo potencial genético ou pela condição fisiológica, ou seja, o tamanho, condição corporal, raça, estado fisiológico bem como pelas características da dieta dos animais.

A existência de duas gaiolas metabólicas na sala é justificada pelo facto de economizar tempo, ao serem filmados os animais dois a dois, por dois operadores, e também para que os animais se sentissem mais confortáveis por sentirem companhia de outro, apesar de isolados fisicamente e sem contacto visual. No fim do tempo estipulado para o teste nas gaiolas metabólicas, os animais eram encaminhados para um parque amplo, dentro da sala, para poderem repousar e facilitar o manejo. Este parque era também constituído por cancelas amovíveis.

Os animais foram alimentados diariamente com alimento não tratado (ver Tabela 1), sendo que, nos dias dos testes de preferências, os animais eram apenas alimentados no fim da sessão de testes de preferências. A quantidade de alimento fornecido a cada indivíduo dos respectivos grupos, ao longo de todo o período de ensaio, foi calculada com base no valor do seu peso metabólico ($PM = PV^{0,75}$) e da condição nutricional a que estava sujeito (ver Tabela 4). O peso vivo dos animais era avaliado semanalmente, a fim de se poder ajustar o plano alimentar à respectiva variação de peso.

Assim, procurou-se determinar se a preferência alimentar é afectada pela interacção entre as características dos alimentos e o estado nutricional do animal.

Para além do processo semanal de pesagens, os animais foram também avaliados relativamente à sua condição corporal (CC) semanalmente, durante as três semanas em que

estiveram sujeitos a testes de preferências alimentares. A simples informação do peso corporal pode não reflectir a quantidade de reservas corporais dos animais sob a forma de gordura, na medida em que uma ovelha grande e magra, pode ter um peso corporal maior que de uma ovelha menor e gorda. No nosso caso, é acrescentado ainda o facto de existirem animais gestantes e animais não gestantes. A expressão “Body Condition”, traduzida por Condição Corporal foi utilizada pela primeira vez no ano de 1919, por Murray (Casey e Stevens, 2012), para definir a razão entre a quantidade de gordura e a quantidade de matéria não gorda existente no animal vivo.

A correcta avaliação da condição corporal de ovinos pode ser facilmente executada através da palpação da região lombar (ver Figura 5), ao avaliar o grau de percepção dos processos espinhosos e dos processos transversos das vértebras lombares, o qual está relacionado com o grau de revestimento desta região anatómica por músculo e gordura (Moraes *et al.* 2005).



Fonte: conectagro.com.br

Figura 5: Área de palpação para avaliação da condição corporal em ovinos

A condição corporal é expressa por uma escala de valores, de 1 a 5, os quais são atribuídos a cada indivíduo, de acordo com as características percebidas por palpação (ver Anexo 3).

3.2.2 Metodologia do processamento das imagens

As vídeo-gravações foram posteriormente analisadas, recorrendo a um *software* Noldus *The Observer*, V5.0, utilizado comumente em análise de dados de comportamento animal (ver Anexos 4 e 5)

Com o objectivo do tratamento de dados, em termos de microestrutura da ingestão dos alimentos, foram tidos em conta os seguintes parâmetros, expressos em segundos:

- duração de cada episódio de preensão em cada um dos tratamentos
- duração de cada episódio de mastigação em cada um dos tratamentos
- alternância entre tratamentos de alimento

3.2.3. Metodologia da análise estatística

O comportamento dos animais registado em imagem permitiu avaliar os parâmetros da microestrutura da ingestão: Preensão, Mastigação e Tempo total de ingestão. O comportamento de cada indivíduo quanto ao modo e frequência de abordagem face a cada um dos alimentos disponibilizados, foi igualmente registado.

O delineamento experimental proposto contempla, assim, a avaliação dos parâmetros anteriormente referidos, considerando os seguintes factores: os tratamentos a que o alimento foi sujeito, a constituição dos grupos de animais e as semanas de ensaio. Assim, pretendeu-se avaliar a influência dos factores referidos, no comportamento de ingestão.

Inicialmente estipulou-se apresentar os resultados dos tempos médios de preensão, mastigação e tempo total de ingestão pela variável de tempo Dias de ensaio (nove). Contudo, verificou-se através dos resultados da análise dos dados, que apenas o primeiro e o segundo dia de ensaio eram significativamente diferentes dos restantes, no caso específico do parâmetro preensão (ver Anexo 6). Desta forma, alterou-se o método de apresentação dos tempos médios de todos os parâmetros, para a variável de tempo Semanas (1^a, 2^a e 3^a).

3.2.3.1. Análise de variância

O estudo da variação dos parâmetros da microestrutura da ingestão foi feito através de Análise de Variância, segundo o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + G_j + S_k + TG_{ij} + TS_{ik} + GS_{jk} + TGS_{ijk} + e_{ijkl}$$

Legenda:

Y_{ijkl} = preensão (s); mastigação (s); tempo total (s)

μ = média

T_i = tratamento de alimento ($i=1,...,3$)

G_j = grupo de animais em teste ($j=1,...,3$)

S_k = semana de ensaio ($k=1,...,3$)

e = erro

Em primeira instância foram analisados dois parâmetros da microestrutura da ingestão: Preensão e Mastigação. Seguidamente, analisou-se o Tempo total de ingestão (soma desses dois parâmetros).

Quando a interação foi significativa utilizou-se como teste Post-Hoc, o teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer.

3.2.3.2. Estudo de frequências por análise de Chi-quadrado

O comportamento dos indivíduos, quanto ao modo e frequência de abordagem, face aos tratamentos do alimento e à disposição espacial dos respectivos contentores, foi avaliado através de análise de Chi-quadrado.

O Chi-quadrado (χ^2) indica-nos em que medida os valores observados se desviam do valor esperado. Quanto maior o seu valor, mais significativa é a relação entre as variáveis dependente e independente.

Esta metodologia de análise será referida apenas em anexos.

4. Resultados e discussão

4.1. Avaliação da condição corporal ao longo do ensaio

Nas figuras abaixo (6,7 e 8), encontram-se representados os valores médios de pontuação de condição corporal dos grupos de animais, ao longo das três semanas a que estiveram sujeitos a testes de preferências alimentares (ver Anexo 7).

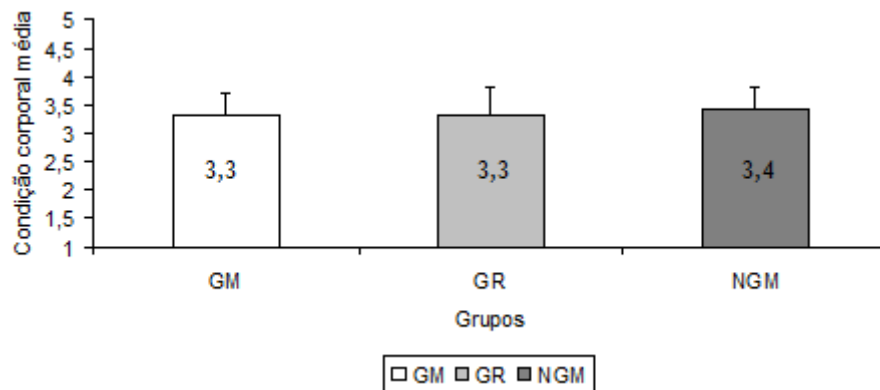


Figura 6: Condição corporal média por grupo de animais, na primeira semana de testes de preferências alimentares (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

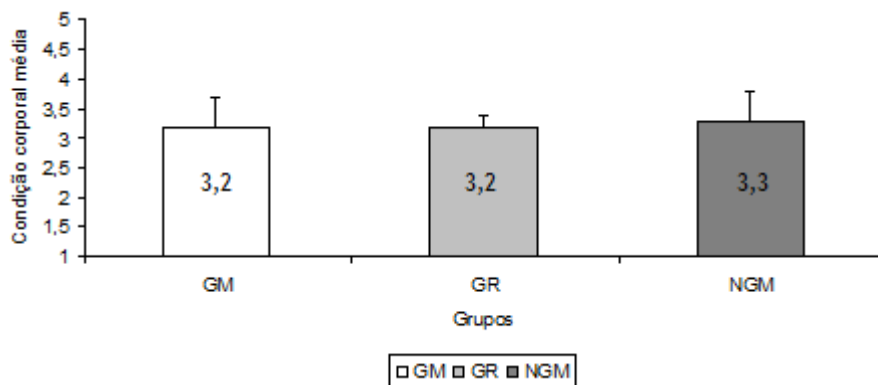


Figura 7: Condição corporal média por grupos de animais, na segunda semana de testes de preferências alimentares (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

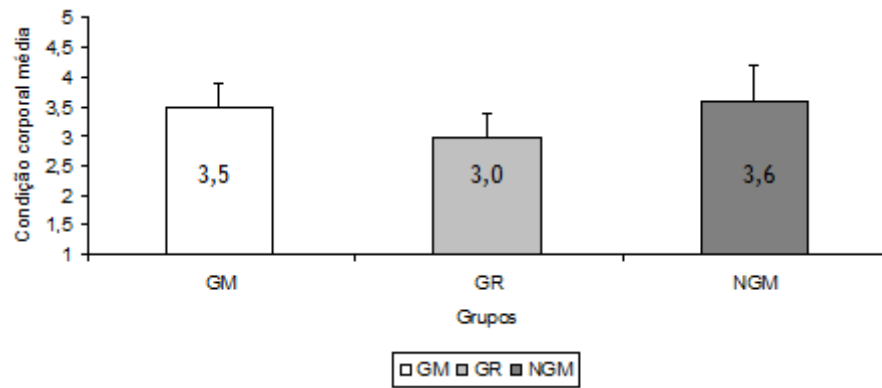


Figura 8: Condição corporal média por grupos de animais, na terceira semana de testes de preferências alimentares (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Existiram variações na condição corporal dos animais ao longo das três semanas de teste de preferências, sendo as mais expressivas as das ovelhas gestantes em restrição, que perderam condição corporal.

4.2. Selecção de tratamentos

Através da análise estatística, recorrendo ao teste do Chi-quadrado disponível no Excel, obtiveram-se os níveis de significância de várias formas de selecção dos alimentos pelos animais nos testes de preferências alimentares.

Na tabela 7 está representado qual foi o tratamento que os animais seleccionaram primeiro. Neste caso, parece não ter havido influência dos tratamentos, quanto à ordem de escolha entre os alimentos eleitos em primeiro lugar ($p > 0,05$), após a entrada na gaiola metabólica.

Tabela 7: Prioridade na preferência pelo tratamento, independentemente do grupo do animal

Tratamento	A	B	C	Total	$p = 0,45$
Observado	51	39	45	135	
Esperado	45	45	45	135	

$p > 0,05$ (NS)

A selecção de alimentos está relacionada com a escolha entre as alternativas. Segundo Favreau-Peigné *et al.* (2012), assim que têm oportunidade de escolha, os ruminantes têm que tomar decisões para seleccionar uma dieta adequada em termos de qualidade e quantidade. Neste caso, parece não ter havido influência dos tratamentos, quanto à ordem de escolha por parte dos animais. Isto porque o valor de $p > 0,05$ indica que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os alimentos eleitos como primeira escolha, após a entrada na gaiola metabólica. Assim, os resultados obtidos parecem indiciar que a probabilidade de estas escolhas terem ocorrido ao acaso, foi grande. Ainda segundo os mesmos autores, quando diferentes gostos são pulverizados sobre o mesmo alimento e comparadas as escolhas no curto prazo, com o mesmo alimento sem qualquer tratamento, muitas vezes, os animais expressam preferências claras. Nesta experiência, e em relação à preferência de tratamento a ingerir inicialmente, tal parece não se ter verificado. Este facto pode dever-se a que, no nosso caso, os tratamentos eram feitos com a mesma substância, o que reduz o âmbito das escolhas, sendo a informação olfactiva possivelmente semelhante entre os três tratamentos.

Na tabela 8 está descrita a mesma forma de selecção do alimento, porém, nos distintos grupos.

Tabela 8: Prioridade na preferência pelo tratamento, por grupos de animais

Tratamento	Grupo	A	B	C	Total	p
Observado	NGM	17	13	15	45	0,77
Observado	GM	17	14	14	45	0,82
Observado	GR	17	12	16	45	0,63
	Esperado	15	15	15	135	

p> 0,05 (NS)

Verifica-se que os distintos estados reprodutivos e nutricionais parecem não ter influenciado significativamente a escolha dos animais, quanto aos alimentos a ingerir em primeiro lugar ($p > 0,05$). Contudo, e apesar de não estatisticamente significativo, é curioso o facto de que o alimento sem qualquer concentração de quinino (A) ter sido o tratamento mais vezes preferido em primeiro lugar por todos os grupos de animais em teste. Como exemplo disso temos o terceiro dia em que os animais foram sujeitos a testes de preferências (ver Tabela 9).

Tabela 9: Exemplo de comportamento de abordagem dos três tratamentos na realização do teste de preferências alimentares no terceiro dia de ensaio, por um animal do grupo NGM e outro do grupo GR (NGM: Não gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição)

Ovelha	Dia de teste	Sequência da abordagem dos tratamentos											
5 (NGM)	3º	A	B	C									
7 (GR)	3º	A	C	A	C	A	C	B	A	B	C	B	C

Nesta tabela, para além de se verificar que a primeira escolha de alimento foi a mesma para ambos os animais do exemplo, podemos ainda retirar outro tipo de informação. Verifica-se através da alternância entre os tratamentos que, os animais dos distintos grupos apresentavam por norma um comportamento de ingestão diferenciado quando sujeitos aos três tratamentos de alimento. O animal 5, representante do grupo NGM, tinha por hábito entrar na gaiola metabólica e, sem qualquer exame olfactivo prévio de todos os tratamentos, iniciar a sua refeição num tratamento, que, abandonava apenas quando este se esgotava e assim sucessivamente até terminar todo o alimento disponível (150g). Por outro lado, o animal 7, pertencente ao grupo GR, tinha por hábito utilizar a informação pré-ingestiva, examinando

olfactivamente os três alimentos disponíveis, iniciando de seguida a sua refeição. Ao longo desta, alternava várias vezes a abordagem aos três tratamentos (ver Anexo 8). Apesar de não visível nesta tabela, é de referir que os animais do grupo GR, com o comportamento referido anteriormente, despendiam um tempo superior a realizar os testes de preferências, comparativamente aos NGM. Os animais 5 e 7 eram animais típicos dentro dos respectivos grupos.

Através das informações contidas acima podemos ainda verificar que, ao contrário do que Van Soest (1994) afirma “geralmente um animal faminto é menos selectivo”, verificámos que o animal NGM, foi muito menos selectivo na forma como realizou, por norma, o teste de preferências no terceiro dia, comparativamente com o animal GR, no mesmo dia de ensaio. A comparação no mesmo dia, tem por objectivo excluir quaisquer factores relacionados com a adaptação do animal ao sistema.

Na nossa situação de ensaio, seria de esperar que os animais ingerissem em primeiro lugar todo o alimento A, que não continha quinino, e só depois os dois restantes, B e C, com menor e maior concentração de quinino, respectivamente. Apesar de na tabela 6 estar demonstrado que os animais seleccionaram mais vezes o alimento A para ingerir em primeiro lugar (estatisticamente não significativo), não se verificou a situação acima descrita, uma vez que os animais iniciavam, mas não terminavam a ingestão de toda a quantidade disponível desse tratamento em primeiro lugar.

Apesar dos alimentos serem apresentados aleatoriamente, na eventualidade de que o que orienta a primeira abordagem ao alimento seja a localização e não as características do alimento, analisámos se existiria qualquer tipo de lateralização dominante. Na tabela 10 estão expressos os resultados decorrentes da abordagem dos animais, face à localização dos tratamentos. Assim, pelo teste de Chi-quadrado, encontraram-se diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) entre as frequências de abordagem das distintas localizações. Este facto leva-nos a pensar que o comportamento exibido não foi totalmente devido ao acaso. Verifica-se uma maior frequência de abordagem ao recipiente que se encontrava na posição central, independentemente do tratamento que nele estivesse contido (ver Tabela 5).

Tabela 10: Primeira preferência por tratamento, face à sua localização relativamente ao animal

Localização	Esquerda	Centro	Direita	Total	$p = 0,000$
Observado	22	73	40	135	
Esperado	45	45	45	135	

$p < 0,001$ (***)

Outra análise que efectuámos diz respeito à sequência de escolha entre os tratamentos (ver Tabela 11), ou seja, a forma como os animais variavam as opções entre os diferentes tratamentos. Esta ordem de preferências, em relação aos tratamentos, não revelou diferenças significativas ($p > 0,05$) ao longo do ensaio, apesar da existência de algumas diferenças pontuais como por exemplo para as sequências ACB e CAB que foram sequências mais frequentemente usadas pelos animais.

Tabela 11: Sequência de abordagem dos tratamentos durante os testes de preferências alimentares

Ordem	ABC	ACB	BAC	BCA	CAB	CBA	Total	$p = 0,46$
Observado	24	27	23	16	27	18	135	
Esperado	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	135	

$p > 0,05$ (NS)

4.3. Tempo de Preensão

Através dos valores contidos na tabela 12 pode verificar-se que o tempo de preensão dos alimentos foi significativamente influenciado pelos factores grupo e semana de ensaio. Quanto ao tratamento, o nível de gosto amargo não influenciou significativamente o tempo de preensão. Verificou-se a existência de uma influência significativa do factor semana no tempo de preensão pelos animais, facto que pode indiciar que estes, ao longo das três semanas que foram sujeitos aos testes, foram adaptando a forma como lidavam com o alimento disponível. A análise de frequências dos tempos de preensão dos tratamentos pelos animais, comprova esses resultados e encontra-se expressa no anexo 9.

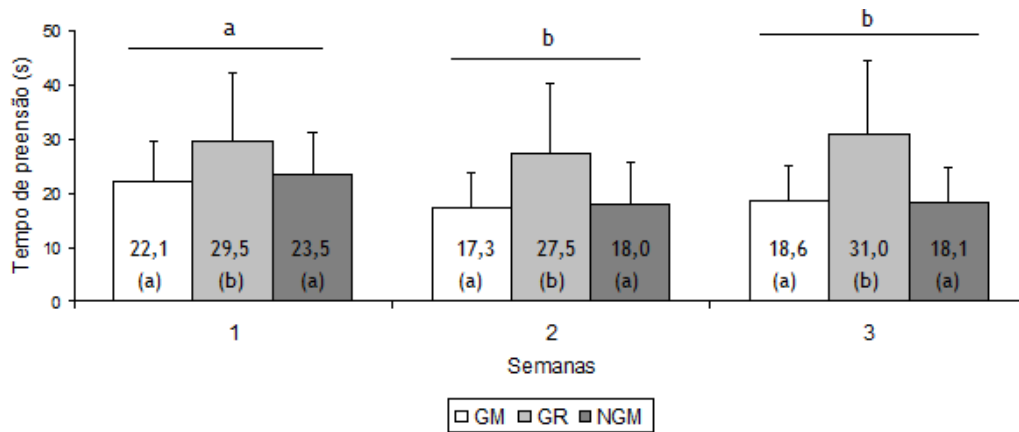
Tabela 12: Análise de variância para o tempo de preensão

Fonte	GL	Soma de quadrados	Quadrados médios	F	p	sig
Grupo	2	5849.873	2924.936	25.50	0.000000	***
Tratamento	2	277.4184	138.7092	1.21	0.299606	NS
Grupo x Tratamento	4	172.4863	43.12156	0.38	0.825834	NS
Semana	2	1587.152	793.5759	6.92	0.001120	**
Grupo x Semana	4	647.4092	161.8523	1.41	0.229670	NS
Tratamento x Semana	4	239.443	59.86076	0.52	0.719762	NS
Grupo x Tratamento x Semana	8	314.3307	39.29133	0.34	0.948957	NS
Erro	378	43363.19	114.7174			
Total (Ajustado)	404	52451.3				
Total	405					

p<0,001 (***); p<0,01 (**); p>0,05 (NS)

Através das figuras 9, 10 e 11 (ver Anexos 10,11 e 12) representativas dos valores médios dos tempos de preensão dos alimentos tratados ao longo das três semanas de ensaio de preferências, podemos verificar que em termos estatísticos, a primeira semana apresentou valores médios de tempo superiores aos das duas restantes, ou seja, os animais demoravam mais tempo a preender o alimento, o que lhe deu lugar de destaque, num subconjunto de valores distinto. Verifica-se que, da segunda para a terceira semana, apesar de a diferença não ter sido significativa, houve um aumento dos valores médios dos tempos de preensão. Em relação aos grupos de animais, os animais gestantes e em restrição (GR) apresentaram valores de tempo de preensão significativamente superiores aos dos animais em manutenção testados (NGM, GM). Ao longo das três semanas, os três grupos tenderam a reduzir o tempo de preensão do alimento B (ver Figura 10). Os animais GR apresentaram o mesmo tempo

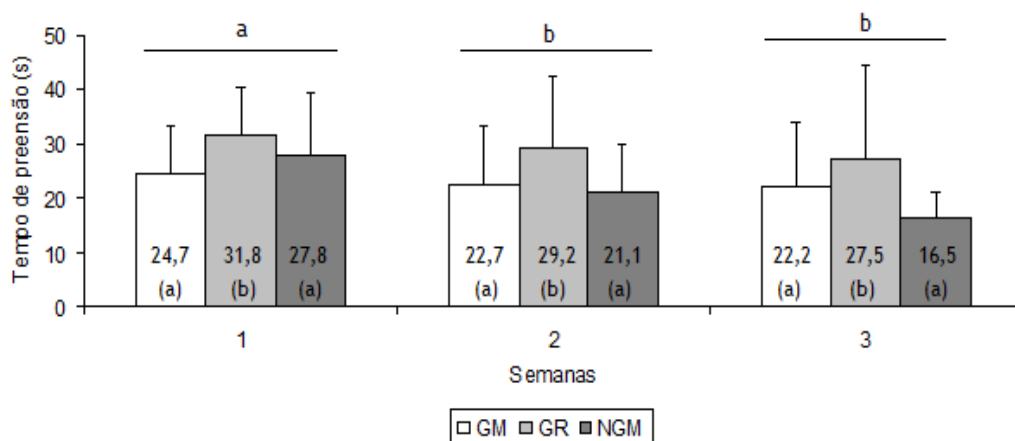
despendido a prender o alimento C na segunda e terceira semanas de ensaio e os animais NGM ao longo das semanas, tenderam a reduzir o tempo de apreensão do alimento tratado com 15% de quinino (ver Figura 11).



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

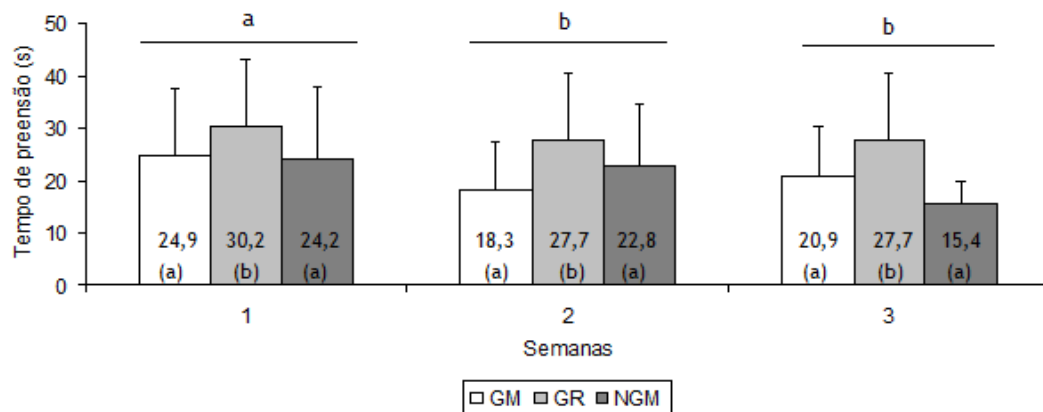
Figura 9: Tempo de apreensão dos distintos grupos de animais no tratamento A, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 10: Tempo de apreensão dos distintos grupos de animais no tratamento B, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

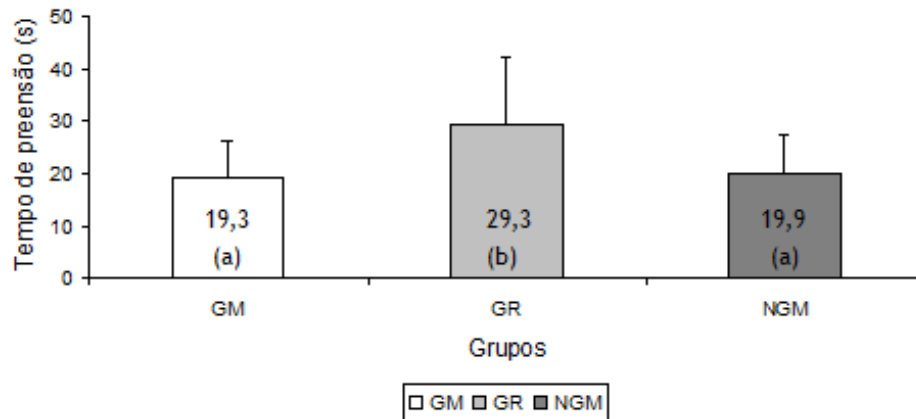


(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

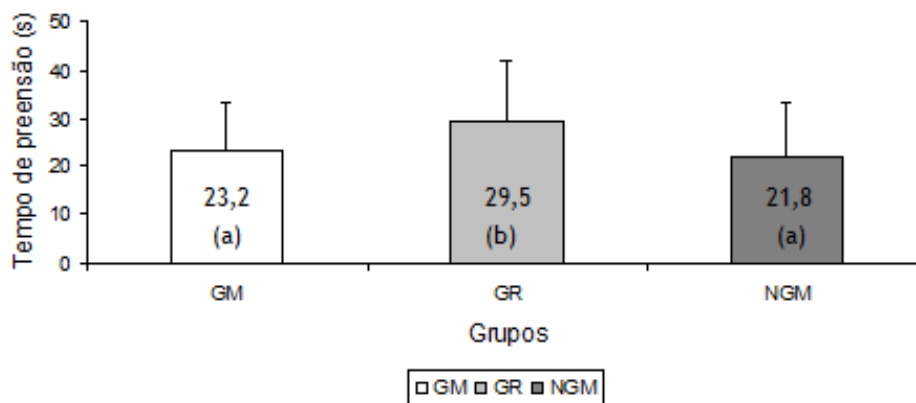
Figura 11: Tempo de preensão dos distintos grupos de animais no tratamento C, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Relativamente ao tempo geral de preensão dos alimentos (A, B e C), isto é, sem o efeito das várias semanas a que os animais estiveram sujeitos aos testes de preferências alimentares, podemos verificar através das figuras 12, 13 e 14 (ver Anexos 13, 14 e 15), que os animais gestantes e em restrição (GR) mais uma vez se destacaram dos restantes, com tempos de preensão superiores, em todos os tratamentos. Todos os grupos aumentaram os tempos de preensão na segunda semana, voltando a diminuir na terceira. Para o tratamento A, o grupo GM foi, em média, o que despendeu menos tempo, seguido do NGM e GR, respectivamente (ver Figura 12); para o tratamento B, o grupo NGM foi o que despendeu menos tempo na preensão (ver Figura 13); para o tratamento C, manteve-se a tendência do alimento tratado com 5% de quinino (ver Figura 14).



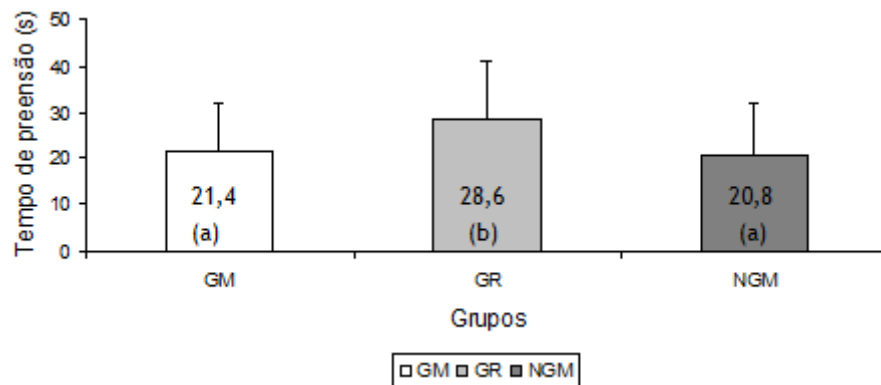
(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 12: Tempo médio de preensão por grupos para o tratamento A (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

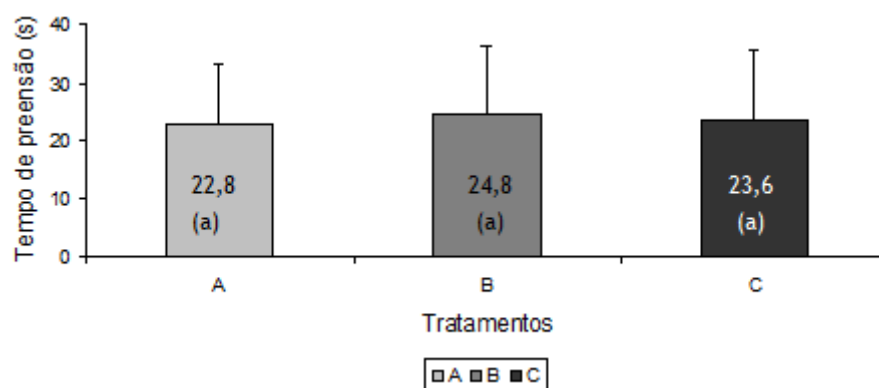
Figura 13: Tempo médio de preensão por grupos para o tratamento B (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 14: Tempo médio de preensão por grupos para o tratamento C (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Podemos verificar que, independentemente do grupo a que os animais pertençam, para os tempos médios de preensão dos alimentos tratados, A, B e C, fornecendo quinino nas proporções de 0, 5 e 15 mg/kg MV respectivamente, não existiram diferenças estatisticamente significativas (ver Figura 15 e anexo 16). Parece, pois, ter havido uma tendência para que os animais tivessem abordado de uma forma indistinta, as diferentes concentrações de quinino (tratamentos B e C).



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 15: Tempo médio de preensão para os distintos tratamentos em estudo (Solução A com 0% quinino; Solução B com 5%quinino; Solução C com 15% quinino) (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

4.4. Tempo de Mastigação

Através dos valores contidos na tabela 13 pode verificar-se que, dos parâmetros testados apenas o grupo influenciou significativamente o tempo de mastigação. A análise de frequências dos tempos de mastigação dos tratamentos pelos animais, comprova esses resultados e encontra-se expressa no anexo 17.

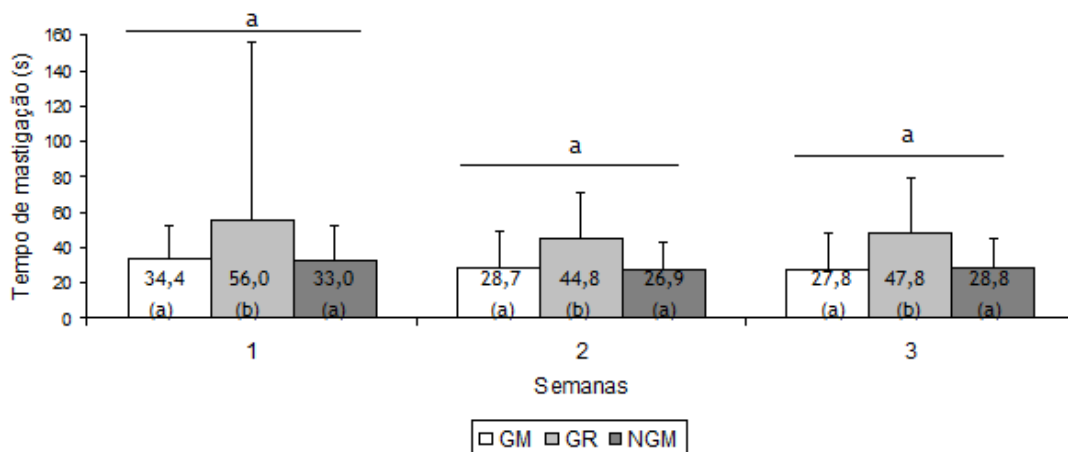
Tabela 13: Análise de variância para o tempo de mastigação

Fonte	GL	Soma de quadrados	Quadrados médios	F	p	sig
Grupo	2	23857.78	11928.89	13.44	0.000002	***
Tratamento	2	577.531	288.7655	0.33	0.722407	NS
Grupo x Tratamento	4	1389.467	347.3668	0.39	0.814736	NS
Semana	2	403.7415	201.8708	0.23	0.796621	NS
Grupo x Semana	4	2239.227	559.8067	0.63	0.640715	NS
Tratamento x Semana	4	3288.984	822.2461	0.93	0.448352	NS
Grupo x Tratamento x Semana	8	5468.271	683.5339	0.77	0.629145	NS
Erro	378	335396.4	887.2921			
Total (Ajustado)	404	372621.4				
Total	405					

p<0,001 (***); p>0,05 (NS)

Através das figuras 16, 17 e 18 e respectivos anexos (18, 19 e 20), representativos dos valores dos tempos de mastigação dos alimentos em teste ao longo das três semanas de ensaio de preferências, podemos verificar que, ao invés do que se registou estatisticamente para os valores do tempo de apreensão dos alimentos, o factor semana não exerceu qualquer influência neste parâmetro, como já verificado na tabela 13. Também aqui os animais GR apresentam valores de tempo superiores aos outros dois grupos de teste. Para o tratamento A, verifica-se que o desvio-padrão da média desse grupo, na primeira semana, apresentou um valor bastante superior ao das restantes. Na primeira semana, todos os animais apresentaram tempos de apreensão de alimento mais elevados, comparativamente com as duas seguintes, para este tratamento específico. Verifica-se que os grupos de animais GR e NGM descenderam os valores médios de duração do tempo de mastigação do alimento A na segunda semana, tendo voltado a aumentar na terceira e última semana de testes de preferências. Por sua vez, o grupo de animais GM, teve tendência a reduzir os tempos de mastigação do alimento tratado apenas com etanol (tratamento A), ao longo das três semanas de ensaio experimental (ver Figura 16).

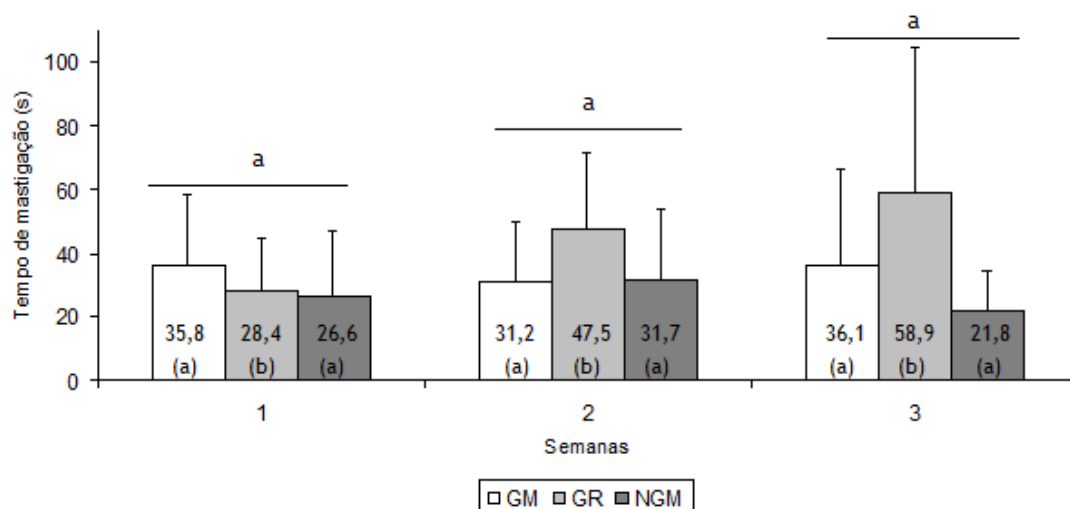
Relativamente ao alimento B (ver Figura 17), os animais GR, ao contrário do que sucedeu no tratamento A, não apresentaram, em todas as semanas os valores de tempo de mastigação mais elevados, mas apenas na 2ª e 3ª semanas. Ainda assim, este facto não fez o grupo perder o lugar de destaque num outro subconjunto de valores, distinto dos que são formados por animais em manutenção. Os animais GR reduziram o tempo de mastigação na segunda semana, voltando a aumentá-lo na última, ao contrário dos NGM, que, aumentaram o tempo na segunda semana, baixando drasticamente na terceira e última, para valores inferiores aos da semana inicial. Relativamente ao alimento tratado com a solução de 15% de quinino (ver Figura 18), podemos verificar que não existiram diferenças significativas nos tempos de mastigação ao longo das três semanas de ensaio. Os animais GR, mais uma vez, apresentaram-se com um comportamento distinto dos restantes, apesar de, na última semana de testes, para este alimento específico, os animais GM terem apresentado valores muito semelhantes ao do grupo de destaque constante; os animais NGM apresentaram sempre um comportamento semelhante ao longo das três semanas, relativamente ao tratamento C.



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

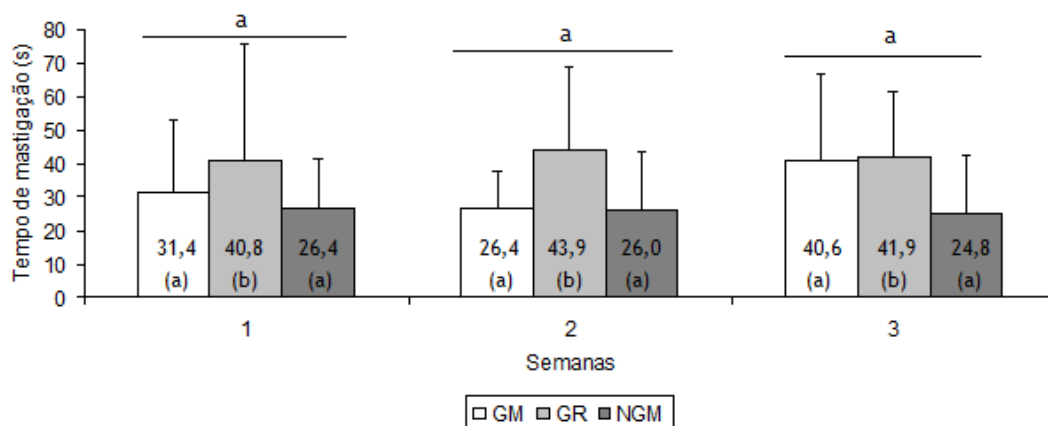
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 16: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento A, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 17: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento B, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

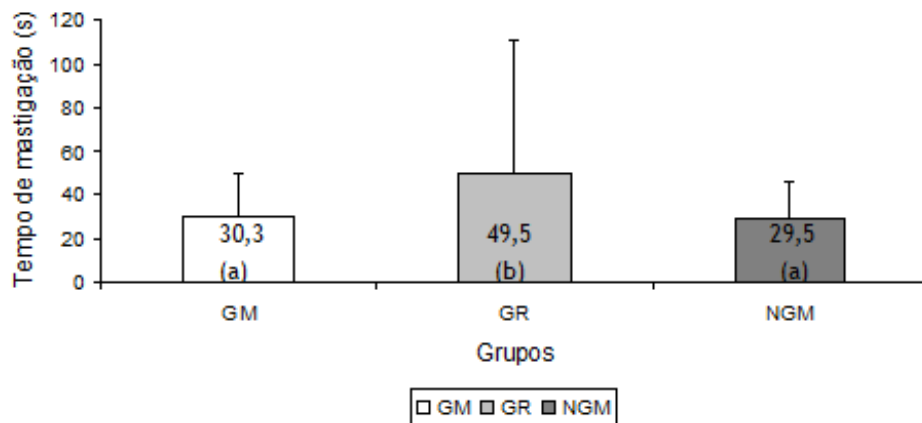


(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 18: Tempo de mastigação dos distintos grupos de animais no tratamento C, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Relativamente ao tempo geral de mastigação dos alimentos (A, B e C), isto é, sem o efeito das várias semanas a que os animais estiveram sujeitos aos testes de preferências

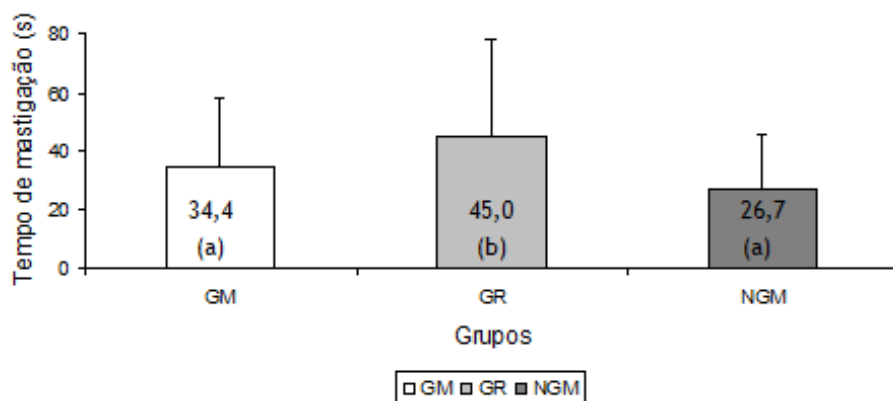
alimentares, podemos verificar, através das figuras 19, 20 e 21, e dos respectivos anexos (21, 22 e 23) que os animais GR mais uma vez destacaram-se dos restantes, com tempos de mastigação superiores, em todos os tratamentos. Relativamente ao tratamento A, verifica-se que, quem despendeu menos tempo a mastigá-lo, por norma, foi o grupo dos animais NGM, sendo, por oposição, os GR os que mais demoram e apresentando também um desvio-padrão mais elevado que os restantes grupos. Para o tratamento B, verifica-se que, à semelhança do que sucedeu no tratamento A, os animais NGM foram os que despenderam menos tempo a realizar a mastigação. GM e GR apresentam-se, respectivamente com valores de tempo superiores. Para o alimento supostamente mais desagradável em termos de intensidade de gosto, manteve-se a mesma tendência do que no alimento B, sendo que os animais GR, com valores de tempo de mastigação mais elevados, pertencem a um subconjunto distinto.



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

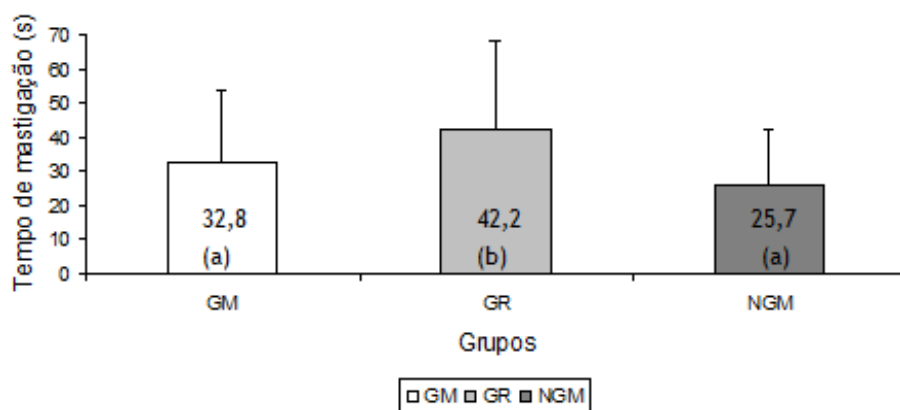
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 19: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento A (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 20: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento B (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 21: Tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento C (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

Pela análise dos dados apresentados na figura 22 (ver anexo 24), verificamos que, à semelhança do que aconteceu num estudo efectuado por Garcia (2012), podemos verificar que o tempo de mastigação dos alimentos pelos animais não apresentou diferenças significativas nos distintos tratamentos testados, apesar de os alimentos e respectivos tratamentos serem distintos dos utilizados neste ensaio de preferências: bolota (A), bolota + PEG (B) e bolota + açúcar (C). Apesar de as diferenças verificadas entre tratamentos não terem sido estatisticamente significativas, o número médio de mastigações observadas no tratamento C

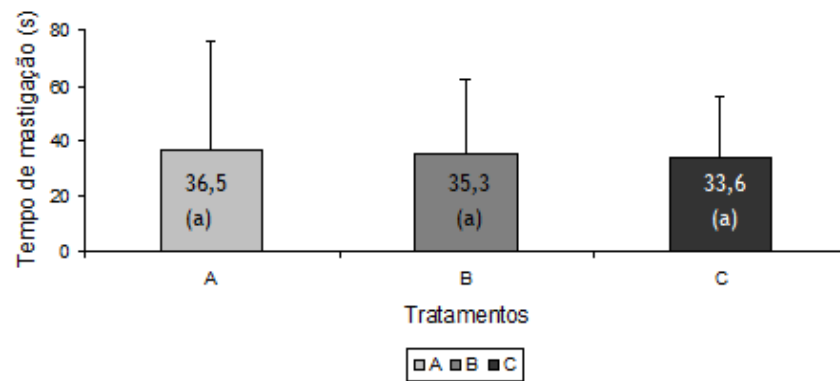
foi inferior ao dos outros tratamentos. Este facto sugere, de alguma forma, que os animais poderão ter reconhecido que o alimento em questão era o que apresentava um gosto amargo mais intenso. Uma situação semelhante foi também verificada por Garcia (2012), referindo que mais mastigações significam maior apetência para o alimento, porém, num contexto distinto em termos de alimentos e respectivos tratamentos. Neste ensaio, a bolota sem tratamento foi a que apresentou menores mastigações, sugerindo que os animais eram sensíveis aos taninos e conseguiam distinguir o alimento não tratado dos tratados.

Os animais GR ao despenderem mais tempo que os dos restantes grupos, no caso do parâmetro mastigação, pode indiciar que foram mais tolerantes no que respeita à palatabilidade, ou seja, conseguiriam ingerir alimentos pouco palatáveis, mais facilmente que os animais NGM e GM. Este facto foi também comprovado por Schütz *et al.* (2006) e por Davis e Perez (1993) ao efectuarem estudos neste âmbito. Ainda segundo explica Mattes (2013) em humanos, o tamanho das partículas aumenta a biodisponibilidade da energia do alimento que se está a consumir, ou seja, quanto mais mastigado for o alimento, menos se perde e mais é retido no organismo do consumidor. Ao invés, quando se mastiga pouco, as partículas maiores são eliminadas pelo organismo. Poderemos comparar, neste caso específico, os ruminantes aos humanos, uma vez que os animais do ensaio se encontravam apenas a consumir concentrado comercial de fácil digestibilidade. Este apresenta pouca fibra, e como tal, o acto da ruminação não era estimulado como se os animais se encontrassem a consumir alimento volumoso.

Apesar de não terem sido registadas diferenças significativas em termos da reacção dos animais aos distintos tratamentos, verificou-se que grande parte dos animais, ao realizarem os testes de preferências, apresentava uma salivação excessiva, de consistência espumosa. A salivação é um fenómeno que tem por objectivo facilitar a mastigação e a deglutição dos alimentos, devido ao seu elevado teor de humidade. A saliva possui, de certa forma, uma actividade anti-bacteriana. É alcalina e apresenta uma propriedade anti-espumante que ajuda na prevenção do timpanismo, que pode ocorrer em diferentes ruminantes. Sob determinadas condições, possui função excretora, eliminando substâncias ingeridas em excesso. Outros factores que podem afectar positivamente a formação de saliva são os alimentos fibrosos e secos, bem como os concentrados, o contacto dos alimentos com a parede do rúmen, e por fim, o olfacto. Neste caso, a salivação excessiva pode indiciar que, apesar de não perceptível em termos de valores, visto que as concentrações em teste parece

não terem sido suficientemente elevadas para tal, os animais sentiam uma reacção ao ingerirem os alimentos tratados, provinda ou do quinino ou do etanol. Contudo é visto que não se encontravam com as suas necessidades nutricionais completamente satisfeitas, quando, na presença de alimento, limitavam-se a ingerir toda a porção fornecida, independentemente das características. As saponinas da luzerna são também frequentemente responsáveis pela produção da espuma (Pressey *et al.*, 1963). Outra explicação poderá estar relacionada com a composição salivar em termos individuais, podendo alguns animais produzir menos mucinas, e o facto de estar em causa um alimento seco, ou mesmo o cheiro provindo dos tratamentos (quer seja do etanol ou do quinino). Esta salivação era espumosa e os animais sentiam-se incomodados porque não conseguiam libertá-la da boca, agitando a cabeça e engasgando-se. Apesar disso, continuavam a querer ingerir o alimento. A suspensão da ingestão ficou a dever-se, em nossa opinião, aos factos relatados anteriormente.

Contudo, apercebemo-nos que as concentrações utilizadas neste contexto, eram, para todos os efeitos, inferiores ao limiar de rejeição pelos animais. Apesar de ter existido uma situação de pré-ensaio onde foram testadas várias concentrações, não fomos bem sucedidos na decisão final. Casos destes acontecem. Como exemplo, temos um estudo efectuado por Favreau *et al.* (2010), em que submeteram os ovinos a testes de preferências de gosto amargo e *umami* e também não foram bem sucedidos no final, devido à escolha das concentrações de quinino testadas. Contudo, é de ressaltar a ideia de que os ovinos são bastante mais tolerantes ao gosto amargo, quando comparados com outros ruminantes, por exemplo os bovinos (Goatcher e Church, 1970). Esta capacidade foi adquirida pelos ovinos, uma vez que, quando sujeitos ao em sistema extensivo de produção, atravessam fases em que a vegetação se apresenta limitada, e estes, na tentativa da sua sobrevivência, ingerem alimento que, noutras situações, seria rejeitado.



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 22: Tempo de mastigação para os distintos tratamentos em estudo (solução A com 0% quinino; solução B com 5%quinino; solução C com 15%quinino)

4.5. Tempo total de ingestão

Este parâmetro é denominado por tempo total de ingestão visto se tratar do somatório dos tempos dos dois parâmetros anteriores, tempo de apreensão e tempo de mastigação.

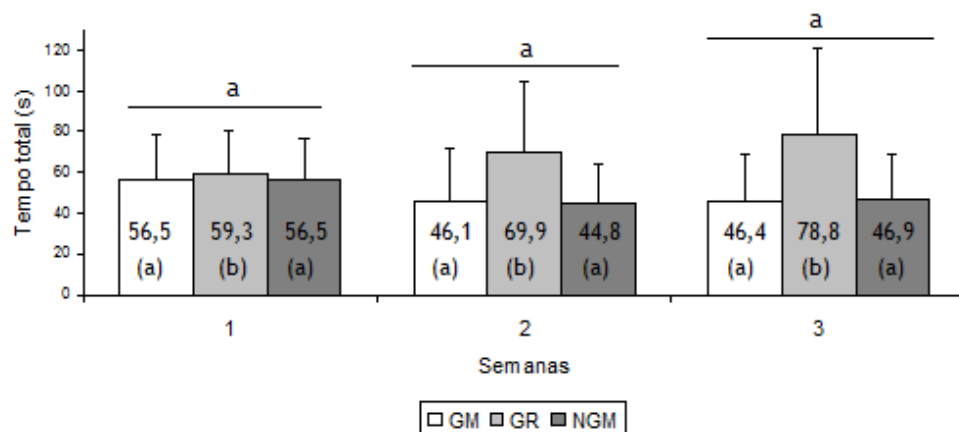
Através dos valores contidos na tabela 14, pode verificar-se que o factor grupo foi altamente influenciador do tempo total de ingestão pelos animais, durante os testes de preferências alimentares. A interacção significativa Grupo x Semana ($p < 0.05$) parece indiciar um comportamento diferenciado do grupo, em função da semana. A análise de frequências dos tempos totais de ingestão dos tratamentos pelos animais, comprova esses resultados e encontra-se expressa no anexo 25.

Tabela 14: Análise de variância para o tempo total de ingestão

Fonte	GL	Soma de quadrados	Quadrados médios	F	p	sig
Grupo	2	38429.99	19214.99	22.05	0.000000	***
Tratamento	2	1009.712	504.8561	0.58	0.560719	NS
Grupo x Tratamento	4	1055.177	263.7943	0.30	0.876073	NS
Semana	2	539.3522	269.6761	0.31	0.733995	NS
Grupo x Semana	4	9878.888	2469.722	2.83	0.024399	*
Tratamento x Semana	4	605.2118	151.3029	0.17	0.951847	NS
Grupo x Tratamento x Semana	8	5015.667	626.9584	0.72	0.674290	NS
Erro	378	329355.7	871.3113			
Total (Ajustado)	404	385889.7				
Total	405					

$p < 0,001$ (***); $p < 0,05$ (*); $p > 0,05$ (NS)

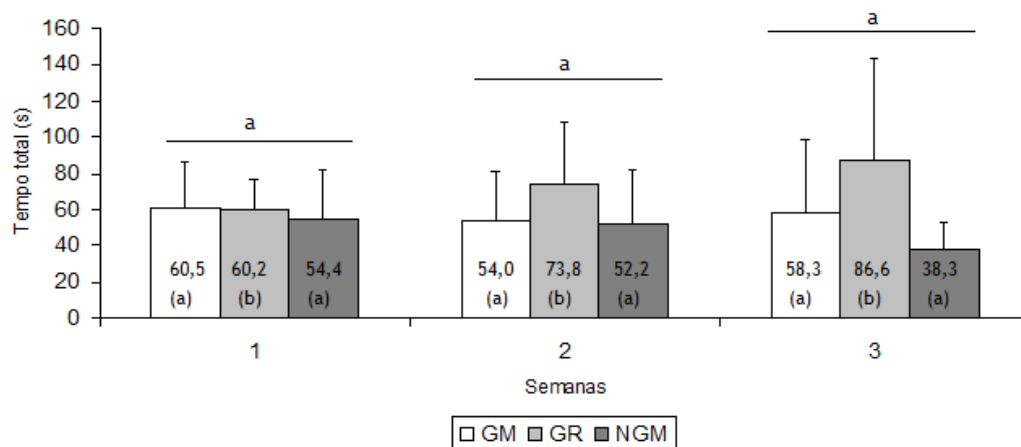
Como visão global do tempo despendido na ingestão de alimentos pelos grupos de animais em teste, verificámos que os animais GR foram, sem margem para dúvida, os que mais tempo despendem a alimentar-se, pelo menos numa situação de ensaio de preferências, contrariamente aos NGM, que apresentam recorrentemente tempos menores (ver Figuras 23, 24 e 25; Anexos 26, 27 e 28). Esta situação foi visível mesmo durante as vídeo-gravações, pois os animais terminavam o alimento muito mais rápido que os dos restantes grupos. Os animais GM encontram-se numa situação intermédia. Este facto é compreensível na medida em que, estando gestantes, mesmo apesar de se encontrarem num nível de alimentação inferior ao *ad libitum*, as carências não são tão evidentes como nos animais gestantes em restrição alimentar.



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

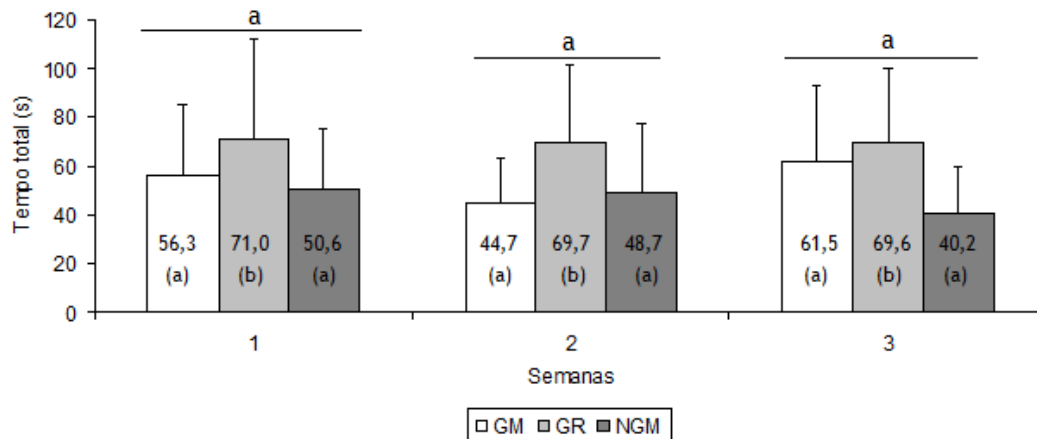
Figura 23: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento A, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 24: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento B, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



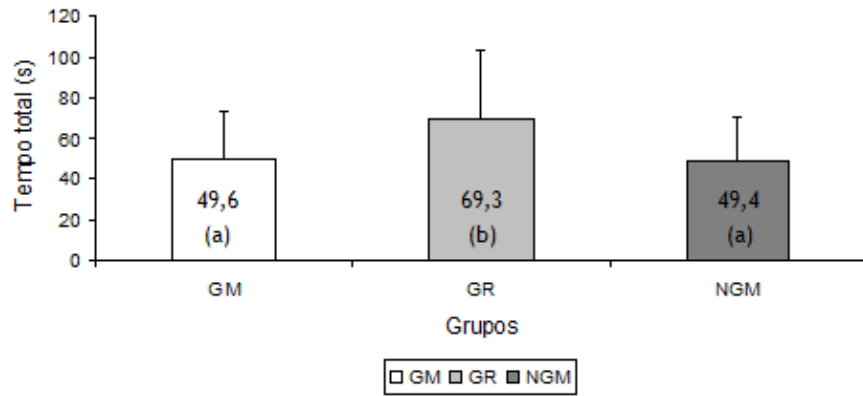
(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 25: Tempo total de ingestão dos distintos grupos de animais no tratamento C, durante as três semanas de ensaio de preferências (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

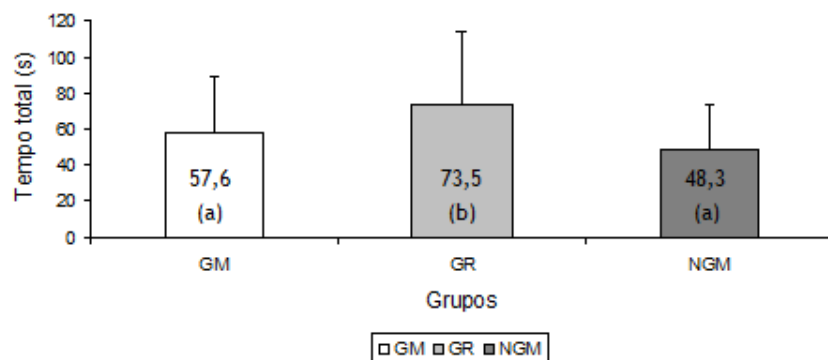
Reportando-nos à tabela 14, referente à análise de variância para o Tempo total de ingestão, verifica-se que houve uma interacção significativa entre o factor Grupo e o factor Semana. Este facto revela que existiu um comportamento distinto dos grupos ao longo das semanas (ver Anexo 29). Poderá estar em causa a evolução da gestação e da condição corporal do grupo sujeito a restrição alimentar.

Relativamente ao tempo total de ingestão dos alimentos (A, B e C) pelos animais, isto é, sem o efeitos das várias semanas a que os animais estiveram sujeitos aos testes de preferências alimentares, podemos verificar através das figuras 26, 27 e 28 e respectivos anexos (30, 31 32) que os animais GR foram os que ocuparam mais tempo a realizar os testes de preferências, dos dez minutos que tinham disponíveis para o efeito, e que os NGM foram o extremo oposto.



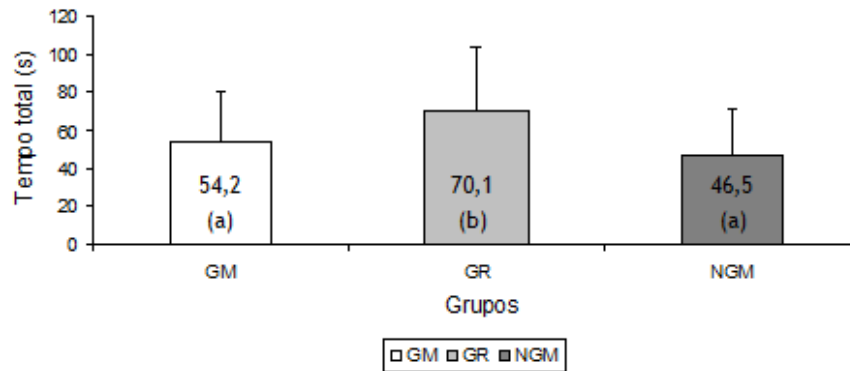
(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 26: Tempo médio de ingestão por grupos para o tratamento A (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)
(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 27: Tempo médio de ingestão médio por grupos para o tratamento B (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 28: Tempo médio de ingestão médio por grupos para o tratamento C (GM: Gestantes em manutenção; GR: Gestantes em restrição; NGM: Não gestantes em manutenção)

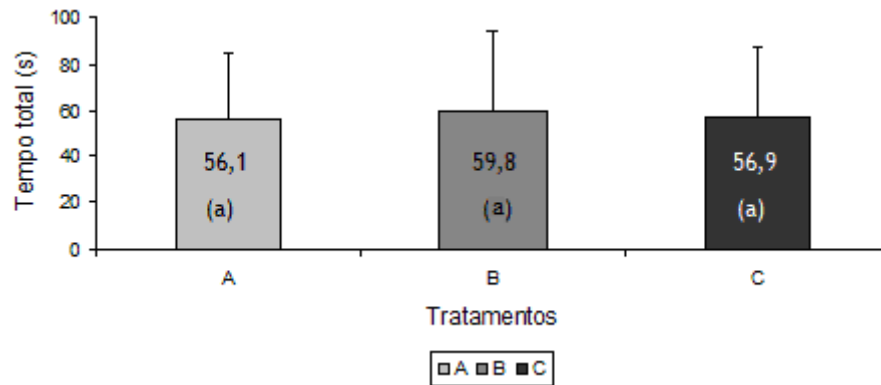
Como referido anteriormente, nas pastagens, os ruminantes são confrontados com situações alimentares muito variadas em termos de qualidade e de disponibilidade dos recursos (Favreau-Peigné *et al.* 2012). Provenza (1995) defende que qualquer indivíduo, na tentativa de sobreviver, deve ser capaz de lidar com tais alterações. Este facto foi, provavelmente uma mais-valia nesta situação de ensaio, pois verificou-se que no contexto dos testes de preferências, nenhum dos tratamentos foi rejeitado.

Por outro lado, segundo Favreau-Peigné *et al.* (2012), quando diferentes gostos são pulverizados sobre o mesmo alimento e comparados em testes de escolha no curto prazo, com o mesmo alimento sem tratamento, os animais muitas vezes expressam preferências claras. Porém, no presente ensaio, tal não se verificou, pois todos os animais ingeriram todos os alimentos, não se verificando diferenças, estatisticamente significativas entre os tempos de ingestão dos três tratamentos.

Visto que os animais despendem mais tempo com alimentos mais palatáveis, neste caso seria de esperar que o alimento A, que não continha quinino, fosse o mais rapidamente ingerido, visto ser o mais palatável, seguido do B e C, respectivamente. Contudo, tal não se verificou.

Visto que o gosto amargo parece ter um valor hedónico bastante negativo para os animais, seria de esperar que os animais manifestassem comportamentos distintos quanto aos tempos de ingestão dos três tratamentos. Os tempos totais de ingestão não se revelaram

significativamente diferentes (ver Figura 29), sugerindo que as concentrações de quinino utilizadas não terão sido suficientemente altas de modo a induzirem comportamentos significativamente distintos, por parte dos animais (ver Anexo 33).



(símbolos iguais: as médias não diferem significativamente; símbolos diferentes: as médias diferem significativamente)

(As linhas horizontais referem-se à comparação de médias entre semanas de ensaio)

Figura 29: Tempo total de ingestão para os distintos tratamentos em estudo (solução A com 0% quinino; solução B com 5% quinino; solução C com 15% quinino)

5. Conclusões

As ovelhas atribuem, *a priori*, um valor aos gostos testados, utilizando-os como pistas para antecipar as consequências dos alimentos a consumir. O gosto amargo apresenta um valor negativo para os animais, comparativamente, por exemplo, com o gosto *umami*, que se apresenta positivo, isto é, concede aos alimentos uma melhor palatabilidade, pelo que os animais têm maior apetência para os ingerir.

Podemos talvez concluir que: a concentração mais elevada de gosto amargo induzido neste alimento foi tolerada pelos animais; de todos os parâmetros testados (grupo de animais, semana de ensaio e tratamentos de alimento) apenas o primeiro influenciou significativamente todas as variáveis (o tempo de apreensão, o tempo de mastigação e consequentemente, o tempo total de ingestão).

As diferenças observadas na microestrutura de ingestão entre grupos de animais que se encontravam em diferentes estados reprodutivos e nutritivos, foi sempre distinta para os animais que se encontravam gestantes e em restrição alimentar, tendo sido esta a conclusão mais marcante do ensaio. Isto indica-nos que o comportamento de ingestão é um mecanismo importante na adaptação do animal às condições desfavoráveis de escassez nutritiva ou presença de gostos amargos.

Com este ensaio experimental podemos também tirar algumas ideias, que permitam, de futuro, aperfeiçoar as técnicas e métodos utilizados para melhor compreender a microestrutura da ingestão dos ovinos em particular, e dos ruminantes em geral. Desta forma, em ensaios semelhantes a este sugere-se que:

- O tempo de pré-ensaio seja mais extenso;
- A concentração de quinino no alimento base para realização dos testes de preferências seja revista, tal como o método de adição da solução ao alimento. Contudo, importa salientar que soluções com concentrações de 30% de quinino, pulverizadas à razão de 5 mL por cada 50 g de alimento, foram também testadas por nós, numa situação de pré-ensaio, tendo sido rejeitadas pelos animais e aumentando muito a variação entre indivíduos;

- O nível de humidade no chão do local de repouso dos animais, devido à água de lavagem, seja tido em consideração. O excesso de humidade cria problemas podais aos animais, afectando o bem-estar, que de alguma forma pode comprometer os resultados;

- Constituir grupos de animais o mais homogéneos possível quanto a idades, pesos vivos e tempos de gestação. Esta seria uma situação ideal, porque a variabilidade entre ovelhas é muito grande dentro de cada grupo;

-A duração total do ensaio seja equacionada de forma a não comprometer os indivíduos gestantes e em restrição alimentar.

6. Bibliografia

- Animal Welfare guidelines for animals in poor conditions. (2012). [Disponível em www.animalwelfarestandards.net.au/; Acedido em 5 Setembro 2013]
- Barrett, P.D., Laidlaw, A.S., Mayne, C.S., Christie, H. (2001). **Pattern of herbage intake rate and bite dimensions of rotationally grazed dairy cows as sward height declines.** Grass and Forage Science, 56: 362-373.
- Barbosa, C. M. P., Carvalho, P. C. de F., Cauduro, G.F., Lunardi, R., Kunrath, T. R., Gianluppi, G. D. F. (2007). **Terminação de cordeiros em pastagens de azevém anual manejada em diferentes intensidades e métodos de pastejo.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, 36: 1953 - 1960.
- Baumont, R. (1996). **Palatability and feeding behaviour in ruminants. A review.** Annales de Zootechnie, 45: 385-400.
- Baumont, R., Prache, S., Mereut, M., Morand-Fehr, P. (2000). **How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review.** Livestock Production Science 64: 15-28.
- Baumont, R., Doreau, M., Ingrand, S., Veissier, I. (2006). **Feeding and mastication behaviour in ruminants.** In: Feeding in domestic vertebrates: from structure to behaviour (Editado por Bels, V.) CABI Publishing, UK, p. 241-262.
- Cardoso, A. R., Carvalho, S., Galvani, D. B., Pires, C. C., Gasperin, B. G., Garcia, R. P. A. (2006). **Comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro.** Ciência Rural, Santa Maria, 36: 604-609.
- Casey, M., Stevens, D. (2012). **The nutrition of ewe pre-mating to parturition.** Understanding the importance of the Body Condition Score and any interaction with Vaginal Prolapse. [Disponível em: <http://farmingsheep.co.nz/wp->

content/uploads/2010/10/BCS-and-Bearings-Review-Final-July2012.pdf; Acedido em: 7 Agosto 2013]

- Carvalho, P.C.F., Poli, C.H.E.C., Nabinger, C., Moraes, A. (2000). **Comportamento ingestivo de bovinos em pastejo e sua relação com a estrutura da pastagem**. In: Ferraz, J.B.S. (Ed). Simpósio Pecuária 2000: Perspectivas para o III Milênio. Pirassununga, Anais: 1-10.
- Carvalho, P.C.F., Filho, H.M.N.R., Poli, C.H.E.C., Moraes, A.; Delagarde, R. (2001). **Importância da estrutura da pastagem na ingestão e selecção de dietas pelo animal em pastejo**. In: Anais da 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 853-871.
- Clapham, W.M., Feders, J.M., Beeman, K., Neel, J.P.S. (2011). **Acoustic monitoring system to quantify ingestive behaviour of free-grazing cattle**. Computers and Electronics in Agriculture, 76: 96-104.
- Crowder, L.V., Chheda, A.H.R. (1982). **Tropical grassland husbandry**. Tropical Agriculture Series. New York: Longman, 561 p..
- Davis, J.D. (1989). **The Microstructure of Ingestive Behavior**. Annals of the New York Academy of Sciences, 575: 106–121.
- Davis, J.D., Perez, M.C. (1993). **Food deprivation- and palatability-induced microstructural changes in ingestive behaviour**. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 264: 97-103.
- Dryden, G. McL. (2008). **Animal Nutrition Science**. CABI Publishing, UK, 302 pp..
- Favreau, A., Baumont, R., Ferreira, G., Dumont, B., Ginane, C. (2010). **Do sheep use umami and bitter tastes as cues of post-ingestive consequences when selecting their diet?** Applied Animal Behaviour Science 125: 115-123.

- Favreau-Peigné, A., Baumont, R., Ginane, C. (2012). **Food sensory characteristics: their unconsidered roles in the feeding behaviour of domestic ruminants.** *Animal*, 7: 806-813.
- Forbes, J. M. (1995). **Voluntary food intake and diet selection by farms animals.** Cambridge: CAB International: 532.
- Garcia, J., Hankins, W.G. (1975). **The evolution of bitter and the acquisition of toxiphobia. In Olfaction and taste.** 5th International Symposium (ed. D Denton and J Coghlan). Academic Press, New York. 39–45.
- Garcia, S.P.C. (2012). **Efeito da adstringência e do doce nas preferências alimentares e na microestrutura de ingestão de bolota por ovinos.** Tese de Mestrado em Zootecnia. Universidade de Évora.
- Garcia-Bailo, B., Toguri, C., Eny, K., El-Sohemy, A. (2009). **Genetic Variation in Taste and Its Influence on Food Selection,** *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 13: 69-80.
- Gill, W. (2004). **Applied sheep behaviour - Agricultural Extension Service, The University of Tennessee.** [Disponível em: <http://animalscience.ag.utk.edu/sheep/pdf/AppliedSheepBehavior-WWG-2-04.pdf>, 2004, p. 15 – 19. Acedido em: 8 Dezembro 2012].
- Goatcher, W.D., Church, D.C. (1970). **Taste responses in ruminants. IV. Reactions of pygmy goats, normal goats, sheep and cattle to acetic acid and quinine hydrochloride.** *Journal of Animal Sciences*, 31: 373-382.
- Gordon, I.J.; Illius, A. (1992). **Foraging strategy: From monoculture to mosaics.** In: SPEEDY, A.W.(Ed.). *Progress in sheep and goat research.* Wallingford: CAB International, p.153-178.
- Greenwood G.B., Demment, M.W. (1988). **The effect of fasting on short-term cattle grazing behaviour.** *Grass and Forage Sciences*, 43: 377-386.

- Hodgson, J. (1990). **Grazing management: science into practice**. Longman Handbooks in Agriculture. 203p.
- Hughes, R. (1993). **Diet Selection: An Interdisciplinary Approach to Foraging Behaviour**. Wiley-Blackwell, 232 pp.
- Jensen, P. (2002). **The Ethology of Domestic Animals - An Introductory Text**. Oxon: CABI Publishing.
- Keen-Rhinehart, E., Dailey, M.J., Bartness, T. (2010). **Physiological mechanisms for food-hoarding motivation in animals**. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences, 365: 961-75.
- Kihlstrom, J. F. (1987). **The cognitive unconscious**. Science 237: 1445-1452.
- Lérias, J.R., Hernández- Castellano, L.E., Morales-dela Nuez, A., Araújo, S.S., Castro, N., Arguëllo, A., Capote, J., Almeida, A.M. (2013). **Body live weight and milk production parameters in the *Majorera* and *Palmera* goats breeds from the Canary Islands: influence of weight loss**. Tropical Animal Health and Production, 45: 1731-1736.
- Mattes, R. (2013). **Mastigar mais os alimentos gera mais energia** [Disponível em: <http://www.presaude.com/academia/dieta-e-nutricao/mastigar-mais-os-alimentos-gera-mais-energia>, Acedido em 18 Agosto 2013].
- McCracken, B.A.; Krysl, L.J.; Park, K.K.; Holcombe, D.W.; Judkins, M.B.(1993) - **Steers grazing endophyte-free tall fescue: seasonal changes in nutrient quality,forage intake, digesta kinetics, ruminal fermentation, and serum hormones and metabolites**. Journal of Animal Science, 71: 1588-1595.
- McGilloway, D.A., Cushnahan, A., Laidlaw, A.S., Mayne, C.S., Kilpatrick, D.J. (1999) **The relationship between level of sward height reduction in a rotationally grazed sward and short-term intake rates of dairy cows**. Grass and Forage Science, 54: 116-126.

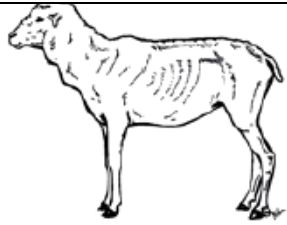
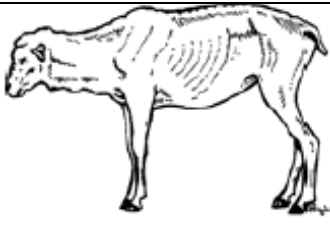

- Mereu, A. (2008). **Palatibility of concentrates fed to sheep**. Tese de Doutorado. Università degli Studi di Sassari.
- Mertens, D. R. (1994). **Creating a system for meeting the fibre requirements of dairy cows**. Journal of Dairy Science, 80: 1463-1481.
- Moraes, J., Souza, C., Jaume, C. (2005). **O uso da avaliação da condição corporal visando máxima eficiência produtiva dos ovinos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado técnico 57, 3 pp.
- Nabinger, C. (1999). **Princípios da exploração intensiva de pastagens**. Anais do 13º Simpósio sobre manejo de pastagens: Produção de bovinos a pasto, Piracicaba-SP, 15-95.
- Naim, M., Ohara, I., Kare, M.R., Levinson, M. (1991). **Interaction of MSG taste with nutrition – perspectives in consummatory behavior and digestion**. Physiology & Behavior, 49: 1019–1024.
- Orr, R.J., Penning, P.D., Harvey, A., Champion, R.A. (1997). **Diurnal patterns of intake rate by sheep grazing monocultures of ryegrass or white clover**. Applied Animal Behavior Science, 52: 65-77.
- Pedroso, C. E. da S., Medeiros, R. B. de, Silva, M. A. da. (2004). **Comportamento de Ovinos em Gestação e Lactação sob pastejo em diferentes estádios fenológicos de azevém anual**. Revista Brasileira de Zootecnia, 33: 1340-1344.
- Penning, P.D., Rook, A.J., Orr, R.J. (1991). **Patterns of ingestive behaviour sheep continuously stocked on monocultures of ryegrass or white clover**. Applied Animal Behavior Science, 31: 237-250.
- Pereira, E.S., De Arruda, A.M.V., Mizubuti, I.Y., Da Silva, L.D.F. (2003). **Consumo voluntário em ruminantes**: Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 24: 191-196.

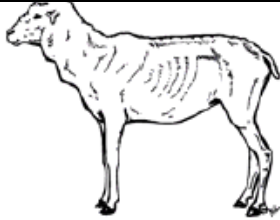
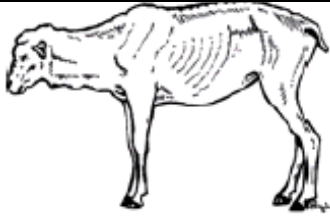

- Pérez-Barberia, F.J., Gordon, I.J. (1998). **Factors affecting food comminution during chewing in ruminants: a review.** Biological Journal of the Linnean Society, 63: 233-256.
- Pressey, R., Synhorst, S.H., Janet Bertram, R.S., Allen, Jacobson, N.L. (1963). **Foaming Properties of Alfalfa and Their Relationship to Bloat.** Journal of Animal Science, 22: 970-978.
- Provenza, F.D. (1995). **Origins of food preference in herbivores.** National Wildlife Research Center Repellents Conference, Paper 29.
- Provenza, F.D., Ralph. (1990). **Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounter.** Behavioural mechanisms of food selection. NATO ASI Series G: Ecological Sciences. 20: 423-459.
- Provenza, F.D., Scott, C.B., Phy, T.S., Lynch, J.J. (1996). **Preferences of sheep for foods varying in flavors and nutrients.** Journal of Animal Sciences, 74: 2355- 236.
- Ralphs, M. H., F. D. Provenza, W. D., Wiedmeier Bunderson, F. B. (1995). **Effects of energy source and food flavour on conditioned preferences in sheep.** Journal of Animal Sciences, 73: 1651-1657.
- Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J. (2008). **Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems.** Small Ruminant Research 74: 1–15.
- Salles, C., Chagnon, M.C., Feron, G., Guichard, E., Laboure, H. Morzel, M. (2011). **In-mouth mechanisms leading to flavour release and perception.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51: 67-90.
- Scanlon, T.T., Almeida, A.M., Van Burgel, A., Kilminster, T., Milton, J., Greeff, J.C., Oldham, C. (2012). **Live weight parameters and feed intake in Dorper, Damara and Australian Merino lambs exposed to restricted feeding.** Small Ruminant Research, 109: 101-106.

- Schütz, K., Davison, D., Matthews, L. (2006). **Do different levels of moderate feed deprivation in dairy cows affect feeding motivation?** Applied Animal Behaviour Science, 101: 253–263.
- Silva, S. C. da. (2004). **Comportamento animal em pastejo.** As pastagens e meio ambiente - Anais do 23º Simpósio sobre manejo da pastagem. Piracicaba, 5 -7 de Setembro, 1-33.
- Spiegel, T.A. (2000). **Rate of intake, bites, and chews – the interpretation of lean- obese differences.** Neurosciences and Biobehavioral Reviews, 24: 229-237.
- Stewart, A., Moir, R., Schinckel, P. (1961). **Seasonal fluctuations in wool growth in south Western Australia.** Australian Journal of Experiments and Agriculture, 1: 85–91.
- Swithers, S.E., Davidson, T.L. (2008). **A Role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats.** Behavioral Neuroscience, 122: 161–173.
- Thompson, J. M., Meyer, H. (n.d). **Trechos de Apostila do curso online de manejo sanitário de ovinos.** [Disponível em: <http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=2302>; Acedido em 9 Setembro 2012].
- Van Soest, P. J. (1994). **Nutritional Ecology of the Ruminant.** Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Zanine, A. M., Santos, E. M., Ferreira, D. J., Lora, A., Lora, G. (2006). **Comportamento ingestivo de ovinos e caprinos em pastagens de diferentes estruturas morfológicas.** Revista Electrónica de Veterinária, VII, 4: 01-10.

7. Anexos

Anexo 1: Decisão de bem-estar para ovinos

	Em risco	Risco substancial	Risco extremo
			
Descrição geral	<ul style="list-style-type: none"> -Magra, mas forte e saudável -Apresenta perda limitada de massa muscular -Redução provável da eficiência reprodutiva 	<ul style="list-style-type: none"> -Perda significativa de músculo. -Improvável a ocorrência de gestação -Risco de morte em tempo frio, chuvoso ou outro tipo de stress. -A recuperação está dependente da grande qualidade dos cuidados a ter com o animal 	<ul style="list-style-type: none"> -Fraco e com reservas corporais extremamente baixas -Deitado e moribundo
Coluna vertebral	-Visível	-Processos espinhosos da coluna vertebral identificáveis	- Processos espinhosos da coluna vertebral muito bem identificáveis
Processos transversos das vértebras lombares	-Ligeiramente visíveis e individualizáveis, mais em ovinos da raça Merino	-Proeminentes e muito afiadas ao toque.	-Muito proeminentes e fácil de ver individualmente
Espaço entre os ísquios	-Apresenta ligeira depressão	-Apresenta depressão visível	-Apresenta uma depressão profunda
Perda de massa muscular	-Os músculos da garupa apresentam-se côncavos	<ul style="list-style-type: none"> -Os músculos da garupa apresentam-se côncavos -Perda evidente de massa muscular no lombo e na perna 	<ul style="list-style-type: none"> -Visível no corpo todo. -Os músculos da garupa e da perna apresentam-se profundamente côncavos
Soldra ou articulação fêmuro-tíbio-rotuliana	-Soldra não identificável	-Soldra identificável	-Soldra identificável
Ossos da cauda	-Não identificáveis individualmente	-Moderadamente identificáveis individualmente	-Facilmente identificáveis individualmente
Aspecto	-Vigilante	-Capaz de se manter de pé mas apático	<ul style="list-style-type: none"> -Falta de energia -Prostrado e apático -Deitado -Incapaz de levantar a cabeça do chão
Mobilidade	-Marcha normal	<ul style="list-style-type: none"> -Apresenta mobilidade -Alguma dificuldade em deitar e levantar 	<ul style="list-style-type: none"> -Marcha instável e titubante -Pode arrastar os pés -Dificuldade em deitar e levantar



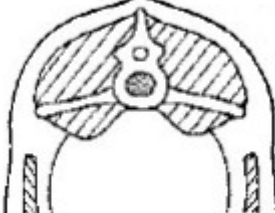
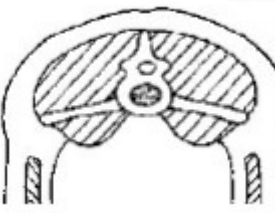
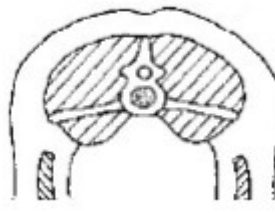
	Em risco	Risco substancial	Risco extremo
			
Questões críticas			
Requisitos no parto e riscos associados ao parto	<ul style="list-style-type: none"> -Necessidade de assistência -Grande possibilidade de perda do borrego durante o parto ou no primeiro dia após o nascimento. -Grande possibilidade de toxemia de gestação e / ou hipocalcemia. -Separar os animais gestantes que se encontrem dentro desta classe de condição corporal -Cuidar e fornecer alimento com elevado teor de energia -Necessidade de procurar aconselhamento de um profissional sobre a alimentação adequada 	<ul style="list-style-type: none"> -Necessidade de muita assistência -Ovelha e borrego podem não sobreviver; -Possibilidade muito elevada de toxemia da gestação. 	<ul style="list-style-type: none"> -Extremamente improvável que o borrego e a ovelha sobrevivam ao parto.
Transporte, venda	<ul style="list-style-type: none"> -Adequado para o transporte e venda mas com o tempo mínimo sem acesso a alimento. 	<ul style="list-style-type: none"> Inadequado para : -Venda através de feiras -Transporte para grandes distâncias 	<ul style="list-style-type: none"> -Não pode viajar
Ação necessária	<ul style="list-style-type: none"> -Devem ser alimentados adequadamente para evitar mais perda de peso; -Adequado para o transporte para pastagens alugadas -Apropriado para a venda, mas não devem ser mantidos sem alimentos ou água durante períodos prolongados; -Supervisionar e estar pronto para auxiliar durante o parto; -Supervisionar o borrego após o nascimento 	<ul style="list-style-type: none"> Devem ser alimentados adequadamente, de imediato para evitar perda de peso; -Não é adequado para o transporte a longas distâncias 	<ul style="list-style-type: none"> -Eutanasiar na exploração ou procurar assistência veterinária para o fazer

Fonte: www.animalwelfarestandards.net.au/

Anexo 2: Datas de parto dos animais intervenientes nos testes de preferências alimentares

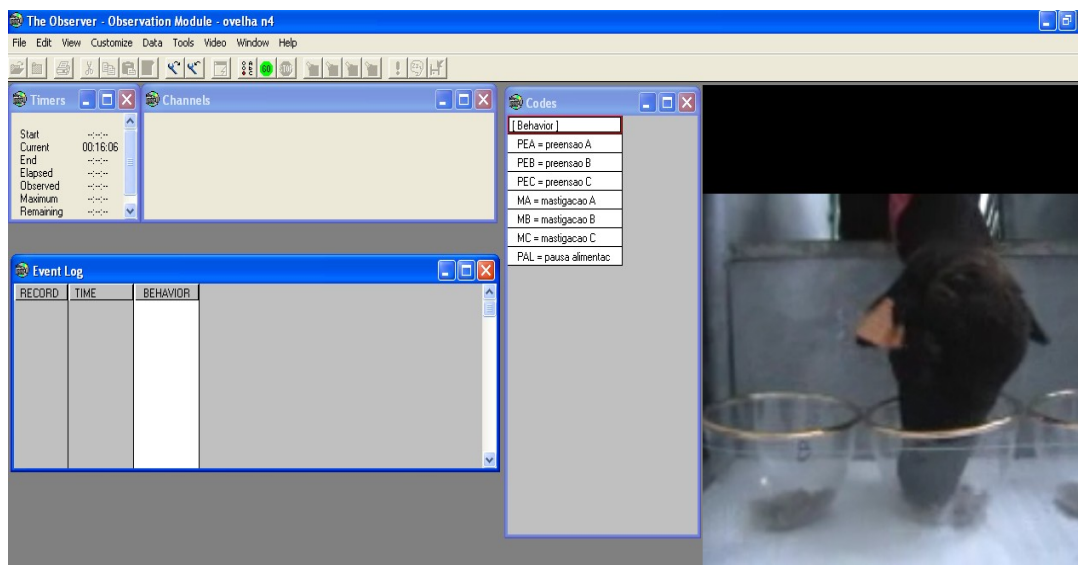
Datas de parto das ovelhas do ensaio	
N.º da ovelha no ensaio	Data do parto
1	20 de Julho
2	25 de Julho
3	4 de Agosto
4	19 de Julho
5	---
6	13 de Agosto
7	2 de Agosto
8	7 de Agosto
9	---
10	---
11	---
12	1 de Agosto
13	17 de Agosto
14	26 de Julho
15	---

Anexo 3: Características dos ovinos nas distintas pontuações, no método tradicional de avaliação da condição corporal de ovinos

CONDIÇÃO CORPORAL EM OVINOS	
CARACTERISTICAS	REPRESENTAÇÃO
<ul style="list-style-type: none">• Processos espinhosos proeminentes e cortantes• Musculatura lombar rasa• Não existe cobertura adiposa• Processos transversos afiados	 CC1
<ul style="list-style-type: none">• Processos espinhosos proeminentes e afiados• Musculatura lombar apresenta uma pequena cobertura adiposa• Processos transversos lisos e levemente arredondados	 CC2
<ul style="list-style-type: none">• Processos espinhosos lisos e arredondados• Musculatura lombar é preenchida com uma cobertura de gordura moderada• Processos transversos lisos e arredondados	 CC3
<ul style="list-style-type: none">• Os processos espinhosos apenas podem ser sentidos com uma forte pressão• Os processos transversos não podem ser palpados• A musculatura lombar está preenchida com uma grossa camada de gordura	 CC4
<ul style="list-style-type: none">• Os processos espinhosos não podem ser sentidos• Existe uma depressão entre o depósito de gordura no local onde, em geral se sente a espinha• Os processos transversos podem ser palpados• A musculatura lombar está totalmente preenchida com uma espessa camada de gordura	 CC5

Fonte: <http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=2302>

Anexo 4: Imagem representativa do módulo de observação/ registo de comportamentos e do módulo de configuração do programa *The Observer*

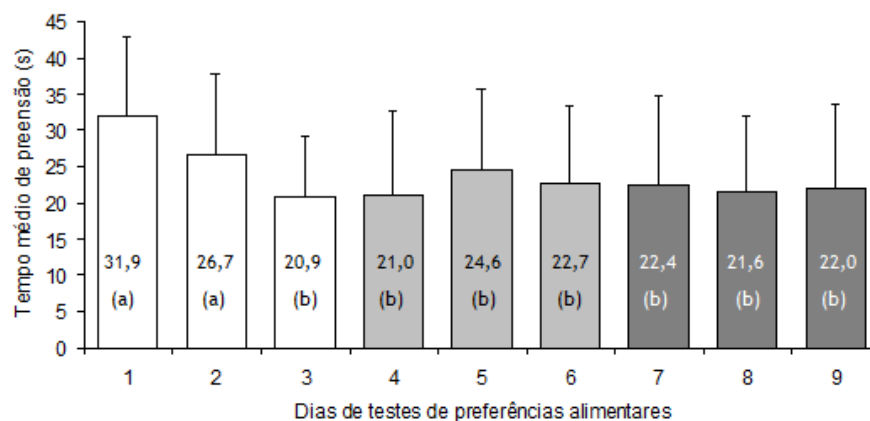


Anexo 5: Tabela exemplificativa dos dados provenientes do programa *The Observer*

9 Julho – 7ª sessão	Ordem ABC							
Start time (s)	Parâmetros	Preensão A	Preensão B	Preensão C	Mastigação A	Mastigação B	Mastigação C	PAL
722,95	preensão B		4,2					
727,15	mastigação B					2,8		
729,95	preensão A	5,25						
735,2	mastigação A				6,3			
741,5	preensão C			1,7				
743,2	mastigação C						3,7	
746,9	preensão C			9,7				
756,6	mastigação C						3,45	
760,05	preensão C			4,6				
764,65	mastigação C						1,65	
766,3	preensão C			6,7				
773	mastigação C						3,8	
776,8	preensão B		4,9					
781,7	mastigação B					1,5		
783,2	preensão A	3,2						
786,4	mastigação A				3,05			
789,45	preensão A	5,25						
794,7	mastigação A				5,25			
799,95	preensão A	4,1						
804,05	mastigação A				8,7			
812,75	preensão B		2,2					
814,95	mastigação B					1,9		
816,85	preensão C			1,6				
818,45	mastigação C						10,2	
828,65	mastigação C							
Duração total (s)	105,7							
Somatório(s)		17,8	11,3	24,3	23,3	6,2	22,8	0
Tratamento total(s)		41,1	17,5	47,1				
Alimento de refugo(g)		0	0	0				
Grupo	GM							

Anexo 6: Valores de média e desvio-padrão para a duração média do tempo de preensão dos tratamentos (s), em função dos diferentes dias de realização de testes de preferências alimentares e gráfico representativo

Dia	$\bar{X} \pm DP$
1	31,9 ± 11,0
2	26,7 ± 11,2
3	20,9 ± 8,2
4	21,0 ± 11,6
5	24,6 ± 11,0
6	22,7 ± 10,7
7	22,4 ± 12,4
8	21,6 ± 10,4
9	22,0 ± 11,8



(as três tons distintos das barras indicam a primeira, segunda e terceira semana de ensaio, respectivamente)

Anexo 7: Condições corporais médias dos grupos de animais em estudo, e respectivos desvios-padrão ao longo das três semanas de ensaio

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	3,3 ± 0,4	3,2 ± 0,5	3,5 ± 0,4
GR	3,3 ± 0,5	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,4
NGM	3,4 ± 0,4	3,3 ± 0,5	3,6 ± 0,6

Anexo 8: Sequência de abordagem/ selecção dos tratamentos, por todos os animais do ensaio, no terceiro dia de testes de preferências alimentares

Ovelha	Condição	Dia	Sequência da abordagem dos tratamentos
1	GM	3	ACBAC
2	GM	3	ACACAB
4	GM	3	CBA
5	NGM	3	ABC
6	GM	3	BACBAC
7	GR	3	ACACACBABCBCB
8	GM	3	BACACAB
9	NGM	3	CABABCAC
10	NGM	3	ACBA
11	NGM	3	ACBA
12	GR	3	CABABCAC
13	GR	3	ABAC
14	GR	3	CBA
15	NGM	3	ACACAB
16	GR	3	ACBAC

Anexo 9: Análise de frequências dos tempos de apreensão dos tratamentos pelos animais, utilizando o teste de Chi-quadrado

		Tratamentos				χ^2	GL	p	sig
	Grupo	A	B	C	Total				
Semana 1	GM	9,2	10,3	10,4	30,0	2,75448	4	0,599716	NS
	GR	12,4	13,3	12,7	38,3				
	NGM	9,8	11,7	10,2	31,6				
	Total	31,4	35,3	33,3	100				
Semana 2	GM	8,5	11,1	9	28,5	10,53731	4	0,032287	*
	GR	13,4	14,2	13,6	41,2				
	NGM	8,8	10,3	11,1	30,2				
	Total	30,7	35,7	33,7	100				
Semana 3	GM	9,4	11,2	10,6	31,1	10,57806	4	0,031739	*
	GR	15,7	13,9	14	43,6				
	NGM	9,2	8,3	7,8	25,3				
	Total	34,2	33,4	32,4	100				

p<0,05 (*); p>0,05 (NS)

Anexo 10: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de prensão do tratamento A

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	22,1 \pm 7,4	17,3 \pm 6,4	18,6 \pm 6,6
GR	29,5 \pm 12,9	27,5 \pm 12,7	31,0 \pm 13,6
NGM	23,5 \pm 7,9	18,0 \pm 7,7	18,1 \pm 6,6

Anexo 11: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de prensão do tratamento B

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	24,7 \pm 8,7	22,7 \pm 10,5	22,2 \pm 11,9
GR	31,8 \pm 8,6	29,2 \pm 13,3	27,5 \pm 16,9
NGM	27,8 \pm 11,9	21,1 \pm 8,9	16,5 \pm 4,6

Anexo 12: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de prensão do tratamento C

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	24,9 \pm 12,7	18,3 \pm 9,1	20,9 \pm 9,5
GR	30,2 \pm 12,8	27,7 \pm 12,6	27,7 \pm 12,9
NGM	24,2 \pm 13,7	22,8 \pm 12,0	15,4 \pm 4,6

Anexo 13: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de prensão por grupos para o tratamento A

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	19,3 \pm 7,0
GR	29,3 \pm 12,9
NGM	19,9 \pm 7,7

Anexo 14: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de apreensão por grupos para o tratamento B

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	23,2 ± 10,3
GR	29,5 ± 12,5
NGM	21,8 ± 11,3

Anexo 15: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de apreensão por grupos para o tratamento C

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	21,4 ± 10,7
GR	28,6 ± 12,5
NGM	20,8 ± 11,3

Anexo 16: Valores de média e desvio-padrão do tempo de apreensão (s) dos distintos tratamentos em estudo (solução A com 0% quinino, solução B com 5% quinino, solução C com 15% quinino)

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
A	22,8 ± 10,5
B	24,8 ± 11,6
C	23,6 ± 12,0

Anexo 17: Análise de frequências dos tempos de mastigação dos tratamentos pelos animais, utilizando o teste de Chi-quadrado

		Tratamentos				χ^2	GL	p	sig
	Grupo	A	B	C	Total				
Semana 1	GM	11	11,4	10	32,5	74,20444	4	0,00000	***
	GR	17,9	9,1	13	40				
	NGM	10,5	8,5	8,4	27,5				
	Total	39,5	29	31,5	100				
Semana 2	GM	9,4	10,2	8,6	28,1	2,938173	4	0,568225	NS
	GR	14,6	15,5	14,3	44,3				
	NGM	8,7	10,3	8,5	27,5				
	Total	32,7	36	31,3	100				
Semana 3	GM	8,5	11	12,3	31,8	84,44975	4	0,00000	***
	GR	14,5	17,9	12,8	45,2				
	NGM	8,8	6,6	7,5	22,9				
	Total	31,8	35,6	32,7	100				

p<0,001 (***); p>0,05 (NS)

Anexo 18: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de mastigação do tratamento A

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	34,4±17,8	28,7±20,0	27,8±20,6
GR	56,0±100,4	44,8±26,6	47,8±31,5
NGM	33,0±19,4	26,9±15,6	28,8±16,2

Anexo 19: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de mastigação do tratamento B

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	35,8 ±22,9	31,2 ±18,8	36,1 ±30,1
GR	28,4 ±16,1	47,5 ±24,0	58,9 ±46,1
NGM	26,6 ±20,6	31,7 ±22,3	21,8 ±12,8

Anexo 20: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo de mastigação do tratamento C

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	31,4 \pm 21,5	26,4 \pm 11,1	40,6 \pm 26,1
GR	40,8 \pm 34,8	43,9 \pm 25,0	41,9 \pm 19,6
NGM	26,4 \pm 14,9	26,0 \pm 17,7	24,8 \pm 17,5

Anexo 21: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento A

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	30,3 \pm 19,3
GR	49,5 \pm 61,4
NGM	29,5 \pm 17,0

Anexo 22: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento B

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	34,4 \pm 23,9
GR	45 \pm 33,2
NGM	26,7 \pm 19,1

Anexo 23: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo médio de mastigação por grupos para o tratamento C

	Totais
	$\bar{X} \pm DP$
GM	32,8 \pm 20,9
GR	42,2 \pm 26,6
NGM	25,7 \pm 16,4

Anexo 24: Valores de média e desvio-padrão (s) do tempo de mastigação dos distintos tratamentos em estudo (solução A com 0% quinino, solução B com 5% quinino, solução C com 15% quinino)

Totais	
$\bar{X} \pm DP$	
A	36,5 \pm 39,3
B	35,3 \pm 26,9
C	33,6 \pm 22,6

Anexo 25: Análise de frequências dos tempos totais de ingestão dos tratamentos pelos animais, utilizando o teste de Chi-quadrado

		Tratamentos				χ^2	GL	p	sig
	Grupo	A	B	C	Total				
Semana 1	GM	10.8	11.5	10.7	33.0	26,3	4	0,00027	***
	GR	11.3	11.5	13.5	36.3				
	NGM	10.8	10.4	9.6	30.7				
	Total	32.8	33.3	33.9	100.0				
Semana 2	GM	9.1	10.7	8.9	28.7	6,6	4	0,15884	NS
	GR	13.9	14.6	13.8	42.4				
	NGM	8.9	10.4	9.7	28.9				
	Total	31.9	35.7	32.4	100.0				
Semana 3	GM	8.8	11.1	11.7	31.5	69,4	4	0,00000	***
	GR	15.0	16.4	13.2	44.6				
	NGM	8.9	7.3	7.6	23.8				
	Total	32.7	34.8	32.5	100.0				

p<0,001 (***); p>0,05 (NS)

Anexo 26: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo total de ingestão do tratamento A

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	56,5 \pm 22,3	46,1 \pm 25,1	46,4 \pm 23,2
GR	59,3 \pm 21,5	69,9 \pm 34,7	78,8 \pm 42,0
NGM	56,5 \pm 20,0	44,8 \pm 19,7	46,9 \pm 21,5

Anexo 27: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo total de ingestão do tratamento B

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	60,5 \pm 25,6	54,0 \pm 26,9	58,3 \pm 40,6
GR	60,2 \pm 16,9	73,8 \pm 34,2	86,6 \pm 56,7
NGM	54,4 \pm 27,5	52,2 \pm 29,9	38,3 \pm 14,5

Anexo 28: Valores de média e desvio-padrão (s) do comportamento dos distintos grupos de animais, relativamente ao tempo total de ingestão do tratamento C

	Semana 1	Semana 2	Semana 3
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
GM	56,3 \pm 29,3	44,7 \pm 18,3	61,5 \pm 31,3
GR	71,0 \pm 41,0	69,7 \pm 31,8	69,6 \pm 30,0
NGM	50,6 \pm 24,9	48,7 \pm 28,9	40,2 \pm 20,0

Anexo 29: Valores de média e desvio-padrão (s) relativos ao Tempo total de ingestão, considerando a interacção GxS

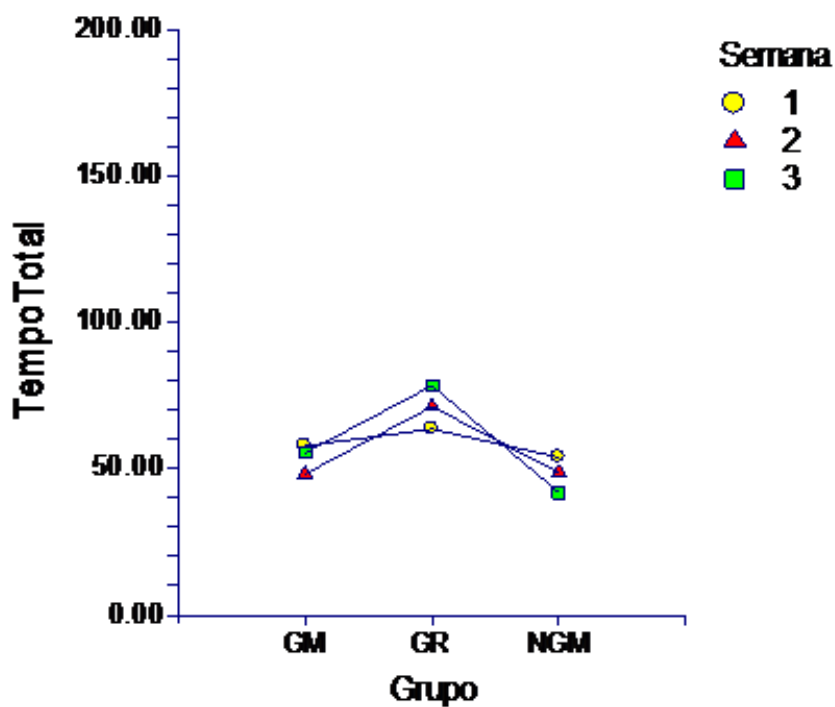
Grupo				
Semana 1	GM	GR	NGM	Total
Medições	45	45	45	135
Média (s)	57.8	63.5	53.8	58.4
Desvio-padrão (s)	25.4	28.3	23.9	26.1
Mínimo (s)	16.6	11.1	22.0	11.1
Máximo (s)	105.2	178.6	113.8	178.6
Semana 2	GM	GR	NGM	Total
Medições	45	45	45	135
Média (s)	48.2	71.2	48.6	56.0
Desvio-padrão (s)	23.6	32.8	26.2	29.6
Mínimo (s)	11.0	23.3	17.4	11.0
Máximo (s)	117.9	133.8	129.2	133.8
Semana 3	GM	GR	NGM	Total
Medições	45	45	45	135
Média (s)	55.4	78.3	41.8	58.5
Desvio-padrão (s)	32.4	43.8	18.9	36.3
Mínimo (s)	11.5	27.0	13.4	11.5
Máximo (s)	141.0	195.8	91.0	195.8
Total	135	135	135	405
	53.8	71.0	48.1	57.6
	27.5	35.8	23.5	30.9
	11.0	11.1	13.4	11.0
	141.0	195.8	129.2	195.8

Teste de TUKEY-KRAMER para comparação múltipla de médias (s), aplicado à interação Grupo x Semana

		Grupo						
		GR			NGM			
		Semana			Semana			
Grupo	Semana	1	2	3	1	2	3	
GM	1	57,8 ± 25,4 (a)	63,5 ±28,3 (a)	71,2 ± 32,8 (a)	78,3 ± 43,8 (b)	53,8 ± 23,8 (a)	48,6 ± 26,2 (a)	41,8 ± 18,9 (a)
	2	48,2 ± 23,6 (a)	63,5 ±28,3 (a)	71,2 ± 32,8 (b)	78,3 ± 43,8 (c)	53,8 ± 23,8 (a)	48,6 ± 26,2 (a)	41,8 ± 18,9 (a)
	3	55,4 ± 32,4 (a)	63,5 ±28,3 (a)	71,2 ± 32,8 (a)	78,3 ± 43,8 (b)	53,8 ± 23,8 (a)	48,6 ± 26,2 (a)	41,8 ± 18,9 (a)
GR	1	63,5 ±28,3 (a)	-	-	-	53,8 ± 23,8 (a)	48,6 ± 26,2 (a)	41,8 ± 18,9 (f)
	2	71,2 ± 32,8 (a)	-	-	-	53,8 ± 23,8 (a)	48,6 ± 26,2 (g)	41,8 ± 18,9 (g)
	3	78,3 ± 43,8 (a)	-	-	-	53,8 ± 23,8 (h)	48,6 ± 26,2 (h)	41,8 ± 18,9 (h)

Na linha, as médias assinaladas com simbologia diferente, diferem significativamente; símbolos iguais indicam que as diferenças entre as médias não são estatisticamente significativas

Gráfico da interação Grupo x Semana



Esquema das diferenças que existem entre cada conjunto (grupo x semana)

Grupo	Semana		Grupo	Semana
GM	1	Difere de	GR	3
GM	2	"	GR	2
GM	2	"	GR	3
GM	3	"	GR	3
GR	1	"	NGM	3
GR	2	"	GM	2
GR	2	"	NGM	2
GR	2	"	NGM	3
GR	3	"	GM	1
GR	3	"	GM	2
GR	3	"	GM	3
GR	3	"	NGM	1
GR	3	"	NGM	2
GR	3	"	NGM	3
NGM	1	"	GR	3
NGM	2	"	GR	2
NGM	2	"	GR	3
NGM	3	"	GR	1
NGM	3	"	GR	2
NGM	3	"	GR	3

Anexo 30: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo total de ingestão médio por grupos para o tratamento A

	Totais $\bar{X} \pm DP$
GM	49,6 ± 23,6
GR	69,3 ± 34,0
NGM	49,4 ± 20,6

Anexo 31: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo total de ingestão médio por grupos para o tratamento B

	Totais $\bar{X} \pm DP$
GM	57,6 ± 31,2
GR	73,5 ± 40,0
NGM	48,3 ± 25,4

Anexo 32: Valores de média e desvio-padrão (s) para o tempo total de ingestão médio por grupos para o tratamento C

Totais	
$\bar{X} \pm DP$	
GM	54,2 \pm 27,2
GR	70,1 \pm 33,8
NGM	46,5 \pm 24,8

Anexo 33: Valores de média e desvio-padrão (s) do tempo total de ingestão dos distintos tratamentos em estudo (solução A com 0% quinino, solução B com 5% quinino, solução C com 15% quinino)

Totais	
$\bar{X} \pm DP$	
A	56,1 \pm 28,1
B	59,8 \pm 34,1
C	56,9 \pm 30,3